UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1952-1953 — N° 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE EXPERIMENTALE PAR LES ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 27 Juillet 1953

PAR

Claude MARÉE
Ancien Externe des Hôpitaux
Né à POITIERS, le 27 Août 1925

Examinateurs de la Thèse

MM. F. PIÉCHAUD, professeur, *Président*
CREYX, professeur
LENG-LEVY, agrégé
LAVIGNOLLE, agrégé
*Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE J. PECHADE
20, rue Margaux, 20
1953

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1952-1953 — N° 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE EXPERIMENTALE PAR LES ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 27 Juillet 1953

PAR

Claude MARÉE

Ancien Externe des Hôpitaux

Né à POITIERS, le 27 Août 1925

Examinateurs de la Thèse

MM. F. PIÉCHAUD, professeur, *Président*
CREYX, professeur
LENG-LEVY, agrégé
LAVIGNOLLE, agrégé
*Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE J. PECHADE
20, rue Margaux, 20
1953

# FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

**DOYENS HONORAIRES :** MM. R. DUPÉRIÉ, L. CHELLE

**DOYEN :** M. G. PORTMANN

**ASSESSEUR :** M. R. SIGALAS

**PROFESSEURS HONORAIRES**

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES
LEURET, PERY, LABAT, CHARRIER,
DUBREUIL. MACHEBŒUF, DUPERIE, CHELLE, CRUCHET

**PROFESSEURS :**

| MM. | | MM. | |
|---|---|---|---|
| Clinique médicale | CREYX. | Pathologie générale et expérimentale | SARIC |
| id. | BROUSTET | Clinique ophtalmologique | BEAUVIEUX. |
| Clinique chirurgicale | PAPIN. | Clinique chirurg. infantile et orthopedie | POUYANNE |
| Clinique chirurgicale | MASSE. | Clinique des maladies infectieuses | AUBERTIN. |
| Clinique d'Accouchements | BIVIÈRE. | Chimie biologique et médicale | TAYEAU |
| Clinique Gynécologique | MAGENDIE. | Physique médicale et pharmaceutique | PIFFAULT. |
| Anatomie pathologique et microscopie clinique | DE GRAILLY. | Médecine et hygiène tropicales et clinique des maladies tropicales | BONNIN. |
| Anatomie | DUFOUR | Clinique des malad. cutanées et syphilitiques | JOULIA. |
| Anatomie générale et histologie | MAYER | Clinique des maladies des voies urinaires | DARGET. |
| Hygiène et clin. de la tuberculose | PIÉCHAUD. | Clinique des malad. nerveuses et mentales | DELMAS-MARSALET |
| Médecine légale et Médecine du travail | DERVILLÉE. | Clinique d'oto-rhino-laryngologie | PORTMANN |
| Electroradiologie et clin. d'électricité médicale | REBOUL. | Toxicologie et hygiène appliquée | CASTAGNOU. |
| Chimie | MESNARD. | Clinique odonto-stomatologique | DUBECQ. |
| Matière médicale | GOLSE. | Botanique et cryptogamie | GIRARD. |
| Pharmacie | VITTE. | Thérapeutique | N. |
| Physiologie | FABRE. | | |
| Clin. méd. des mal. des enfants | FONTAN. | | |
| Zoologie et parasitologie | SIGALAS. | | |

PROFESSEURS SANS CHAIRE : M. PERRENS (Maladies mentales).
M. BLANQUET (Physique pharmaceutique)

**MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :**

| MM. | | MM. | |
|---|---|---|---|
| Parasitologie | PAUTRIZEL | Pharmacie (1re Section) | R. GOLSE |
| Physiologie | Mlle ROUGIER | Pharmacie (2e Section) | MASQUELIER |
| Bactériologie | MOUSTARDIER | » | QUILICHINI |
| Anatomie pathologique | LEGER | Pharmacie (3e Section) | CAZAUX |
| Anatomie | RIGAUD | Biochimie médicale | NEUZIL |
| | | Pathologie expérimentale | FAURE |

**AGRÉGÉS EN EXERCICE :**

| MM. | | MM. | |
|---|---|---|---|
| Médecine Générale | DUBARRY | Obstétrique | CHASTRUSSE |
| » | F.-J. TRAISSAC | » | FAUGÈRE |
| » | BERGOUIGNAN | Ophtalmologie | BESSIERE |
| » | LENG-LEVY | Oto-rhino-laryngologie | DESPONS. |
| » | LAVIGNOLLE | Dermatologie et syphiligraphie | LE COULANT |
| » | MORETTI | Pédiatrie et Puériculture | VERGER. |
| Chirurgie Générale | LAUMONIER | Médecine légale et Médecine du travail | L'ÉPÉE. |
| » | J. CHAVANNAZ | Electroradiologie | LACHAPÈLE. |
| » | VILLAR | Odonto-stomatologie | BENOIT |
| » | TINGAUD | Urologie | LANGE |
| » | DEPAULIS | | |

**AGRÉGÉ LIBRE ;**

M. MAHON (*Obstétrique*)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

**COURS COMPLÉMENTAIRES :**

| MM. | | MM. | |
|---|---|---|---|
| Médecine opératoire | LAUMONIER | Obstétricie sociale | MAHON |
| Accouchements | CHASTRUSSE | Pharmacie galénique | N. |
| Puériculture | VERGER | Organographie et Physiologie végétale | TEMPERE |
| id. | PERY | Pathologie chirurgicale | LAUMONIER |
| Législation pharmaceutique | POPLAWSKI. | - | VILLAR |
| id. | COUSTOU | Zoologie pharmaceutique | BAILANGER |
| Anatomie | CABANIE | Chimie biologique analytique | MARQUEVIELLE |
| Chimie analytique | BABIN | | |
| Cryptogamie | LAUBIE | | |

*Le Secrétaire principal de la Faculté :* ROUGERIE

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MA MÈRE

---

A MON PÈRE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

---

A MA FEMME

---

A MON FILS

---

A TOUS LES MIENS

---

## A Monsieur le Docteur R. TESSIER

Ancien Interne des Hôpitaux
Ancien Chef de Clinique a la Faculté
Médecin phtisiologue des Hôpitaux

*Nous avons bénéficié de son enseignement médical étendu, direct et de haute valeur.*

*Son amitié nous a été infiniment précieuse, et nous tenons à lui dire l'affection sincère que nous avons pour lui.*

*Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour le réconfort et la confiance qu'il nous a donnés par son exemple.*

---

## A Monsieur le Docteur P. FRÉOUR

Ancien Interne des Hôpitaux
Ancien Médecin Résident
du Centre départemental de Phtisiologie Xavier-Arnozan
Médecin phtisiologue des Hôpitaux

*Nous avons toujours admiré son enseignement clair et précis.*

*Nous le remercions de nous avoir permis de contribuer à ses travaux de médecine expérimentale qui nous ont suggéré le sujet de cette thèse. Il nous a guidé durant la préparation de ce travail et nous a apporté, par son dynamisme et son savoir, le meilleur encouragement.*

*Qu'il soit assuré de notre sincère reconnaissance.*

---

A Monsieur le Docteur H. MONMAYOU

Ancien Interne des Hôpitaux

Ancien Chef de Clinique a la Faculté

Médecin phtisiologue des Hôpitaux

*Nous l'assurons de toute notre gratitude pour l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné.*

*Qu'il nous permette de lui dire notre respectueuse admiration et notre sincère attachement.*

---

A Monsieur le Docteur J.-P. SECOUSSE

Ancien Chef de Clinique a la Faculté

*qui nous a honoré de son amitié.*

---

A Monsieur le Docteur J. NAPPÉE

Médecin Résident

du Centre départemental de Phtisiologie Xavier-Arnozan

*qui nous a si souvent manifesté sa sympathie.*

---

A TOUS MES AMIS

du Centre de Pneumo-Phtisiologie Xavier-Arnozan

---

A NOS JUGES

A Monsieur le Professeur Agrégé LAVIGNOLLE

Médecin des Hôpitaux

---

A Monsieur le Professeur Agrégé LENG-LEVY

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre

Officier ordre Libération

King's medal for courage in the cause of freedom

---

A Monsieur le Professeur M. CREYX

Professeur de Clinique Médicale

Médecin des Hôpitaux

Officier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre

Officier de l'Instruction Publique

---

# A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

## Monsieur le Professeur F. PIÉCHAUD

Professeur d'Hygiène et de Clinique de la Tuberculose

Médecin des Hôpitaux

Officier de la Légion d'Honneur

Chevalier de l'Ordre de la Santé Publique

Croix de Guerre

Médaille des Epidémies

Officier de l'Instruction Publique

Fellow in the American College of the Chest-Physicians

*Cher Maître,*

*On ne peut que souscrire pleinement à votre réputation de professeur, de médecin, d'humaniste.*

*Nous voudrions cependant vous dire combien nous admirons en vous l'homme à la bonté infinie, l'esthète aux connaissances riches et subtiles, le maître à la pensée droite et stricte.*

*En vous remerciant d'avoir accepté de présider notre Jury de thèse, nous vous exprimons ici notre très respectueux et profond attachement.*

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE PAR LES ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES

## INTRODUCTION

### 1° Bases du traitement par les antibiotiques en matière de tuberculose

Nous disposons à l'heure actuelle de trois antibiotiques majeurs contre la tuberculose : la streptomycine, l'I.N.H., le P.A.S. Ils ont transformé le pronostic et l'évolution de la maladie tuberculeuse, mais leur emploi exige de plus en plus du médecin une technique judicieuse d'administration. Autant il était logique, aux débuts du traitement par la streptomycine, d'user d'une thérapeutique large, généreuse et prolongée, autant il serait, à notre époque, imprudent de manier ces armes puissantes sans ménagement et sans discernement, avec l'espoir d'obtenir toujours des résultats constamment efficaces.

On s'est aperçu assez rapidement, en effet, que l'action remarquable de la streptomycine s'épuisait lorsque le malade en avait reçu une certaine quantité. Le laboratoire apporta l'explication de ces faits cliniques : au cours du traitement, le bacille de Koch s'habitue peu à peu à la streptomycine, et cette résistance s'accroit progressivement. Il en est de même pour l'I.N.H. et le P.A.S.

Ainsi la notion de résistance du bacille de Koch aux antibiotiques doit présider aux décisions thérapeutiques, en parallèle avec la nécessité d'un traitement suffisant. Traiter son malade de façon efficace en reculant au maximum l'apparition d'une résistance, tel est le problème que doit résoudre journellement le praticien.

Après des débuts critiqués, l'idée d'associer deux antibiotiques a largement fait son chemin. L'expérimentation et la thérapeutique ont, en effet, montré l'intérêt indiscutable de la méthode. Les médicaments ainsi associés seraient plus actifs et reculeraient l'échéance de la résistance.

Après l'emploi de la streptomycine et du P.A.S., la survenue de l'I.N.H. rend possible quatre types d'association:

Streptomycine - P.A.S.
Streptomycine - I.N.H.
I.N.H. - P.A.S.
Streptomycine - I.N.H. - P.A.S.

*Nous bornerons notre travail à l'étude des associations de ces trois antibiotiques majeurs.*

Les résultats cliniques encore partiels ne permettent pas d'avoir une opinion absolument précise sur la valeur comparée de ces associations. Pouvons-nous nous appuyer sur les résultats des études expérimentales ? Celles-ci peuvent être conduites in vitro et in vivo.

## 2° LES ETUDES EXPÉRIMENTALES COMME BASES DES RECHERCHES CLINIQUES

L'intérêt de la recherche concernant l'activité in vitro des associations d'antibiotiques est évident. La méthode permet d'analyser des phénomènes variés susceptibles d'être sériés le plus possible. On arrive ainsi à des idées nouvelles qui peuvent être vérifiées de façon très exacte, les notions de synergie par exemple, ou de pouvoirs bactériostatique

et bactéricide. On a pu aussi vérifier la réalité de l'existence de souches résistantes, dépendantes, exigeantes.

Il y a cependant un grave inconvénient : les conditions de l'expérience sont très anormales et très particulières, en tous les cas très différentes de ce qui se passe dans l'organisme humain malade. Il y a donc avantage, après ce premier stade in vitro, à s'adresser à l'animal. Le bacille de Koch ne se trouve plus dès lors dans un milieu amorphe, mais dans un organisme qui va lutter plus ou moins intensément contre lui. Les antibiotiques introduits dans ce milieu de culture vivant sont éliminés plus ou moins rapidement; bref, les conditions se rapprochent beaucoup de la pathologie et de la thérapeutique humaine.

Mais, cependant, elles sont encore trop éloignées *pour que l'on puisse* en tirer des conclusions formelles.

D'abord, parce que les différences dans l'évolution de la tuberculose, chez des animaux d'espèces diverses, pour un même mode d'infection, montrent que chaque espèce réagit d'une manière un peu différente et qui lui est propre. De ce fait, l'action des antibiotiques peut ne pas être la même chez l'animal et chez l'homme ;

Parce que l'on s'adresse à des lésions plus jeunes et que le traitement est commencé habituellement très rapidement ou même concurremment à l'inoculation virulente;

Parce que les lésions présentées par l'animal, locales ou générales, ne sont pas celles de la phtisie ordinaire ;

Parce qu'aussi l'étude porte en gros sur l'action immédiate, mais pratiquement pas sur le devenir lointain des animaux.

Cependant, malgré leurs imperfections, les recherches in vitro et in vivo sont capables de donner quelques précisions sur différents points et elles fournissent tout de même les bases absolument nécessaires à la thérapeutique.

PREMIERE PARTIE

# ÉTUDES IN VITRO

## CHAPITRE PREMIER

# CONSIDERATIONS TECHNIQUES

### Différentes manières d'opérer (1)

Il y a bien des moyens d'étudier in vitro l'activité de substances médicamenteuses vis-à-vis du bacille de Koch. En fait, ceux-ci peuvent varier à l'infini *selon* le jeu des différents facteurs. Les résultats peuvent en être très influencés. Nous allons passer en revue ces facteurs de façon très rapide. Une étude approfondie nécessiterait, *en outre*, des connaissances très spéciales de la question et sortirait du cadre de cet exposé.

### Action du milieu

Il existe des milieux solides et des milieux liquides, plus ou moins favorables à la croissance des germes. La quantité d'antibiotique active varie avec ces milieux. Coletsos (2), par exemple, détermine ainsi les quantités d'antibiotique nécessaires à assurer la bactériostase vis-à-vis du B.K. pour la streptomycine, le P.A.S., l'I.N.H.

*En milieu solide de Lœwenstein-Jensen :*

0,25 mcg de streptomycine par $cm^2$
0,01 » de P.A.S.
0,025 » d'I.N.H.

*En milieu de Dubos au Tween* 80, *Albumine :*

0,1 mcg de streptomycine par $cm^3$
1 » de P.A.S.
0,08 » d'I.N.H.

*En milieu de Youmans - Sérum :*

0,4 mcg de streptomycine par $cm^3$
0,25 » de P.A.S.
0,04 » d'I.N.H.

Les milieux synthétiques, celui de SAUTON par exemple, semblent fournir, en général, les chiffres d'activité les plus élevés. La présence de peptones ou de matières protéiques non dégradées fait parfois tomber le taux d'activité à une valeur infime.

### EVOLUTION DE L'ANTIBIOTIQUE DANS LE MILIEU

L'étude de l'action des antibiotiques in vitro est rendue difficile par la lenteur de la croissance du bacille tuberculeux, l'antibiotique pouvant être spontanément détruit avant que la culture n'ait pris un certain développement. On n'observe alors qu'un simple temps d'arrêt, soit que l'antibiotique se soit détruit spontanément (Clitocybine), soit qu'il y ait des processus d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse auxquels la vie bactérienne n'est sans doute pas étrangère.

Pour pallier cette lenteur de croissance du bacille tuberculeux, on peut se servir de la souche isolée par ARLOING et COURMONT, qui semble identique à celle isolée par HOLLANDE. Cette souche très particulière pousse en deux à quatre jours, mais il s'agit d'une variété avirulente, difficile à assimiler complètement aux souches virulentes de l'homme.

On peut choisir le B.C.G., mais, là encore, on peut élever la même réserve. Ce bacille s'est tellement modifié que son comportement vis-à-vis des agents chimiothérapiques est parfois très différent de celui des races virulentes.

### CHOIX DE LA SOUCHE

Il est, en effet, de la plus grande importance, comme nous venons de le voir. La plupart des auteurs opèrent avec des souches connues, souche H. 37 Rv., souche BRÉVANNES,

etc... Mais il est aussi fort intéressant de s'adresser à des souches moins connues, ou même inconnues, pour vérifier avec ces dernières les résultats obtenus avec les premières.

Il est également du plus haut intérêt d'employer parfois des souches résistantes à un ou deux antibiotiques, et de chercher ainsi l'action du ou des antibiotiques restants, seuls ou en association. On peut ainsi se rendre compte de l'action de l'I.N.H. sur des germes streptomycino-résistants par exemple.

### Conditions de l'expérience

Les résultats peuvent varier de façon considérable selon que l'antibiotique ou les antibiotiques sont déposés dans le milieu de culture avant l'ensemencement, en même temps ou après la croissance du germe.

L'interprétation des résultats est tout à fait capitale. Il ne faut jamais négliger, en comparant les résultats de deux auteurs, de rapprocher également les techniques employées pour apprécier ces derniers.

Chabbert (3) a proposé différentes techniques pour l'étude des effets bactériostatique et bactéricide des antibiotiques isolés et associés. Il expose, au préalable, ce qu'il faut entendre par bactériostase et action bactéricide, et nous ne pouvons mieux faire que de le citer.

« Il y a *bactériostase* lorsque le nombre de germes d'un tube, à un temps donné, est inférieur à celui d'un tube témoin, mais néanmoins, supérieur à l'inoculum. Il y a tantôt inhibition totale, tantôt inhibition partielle. »

« Il y a action *bactéricide* lorsque le nombre de germes d'un tube, à un temps donné, est inférieur au nombre de germes ensemencés. Cette action peut être totale, ou seulement partielle; on a alors affaire à des survivants, germes qui échappent à l'action bactéricide de l'antibiotique au moment de l'observation et qui, repiqués, présentent néanmoins la même sensibilité que la souche originelle. »

CHABBERT distingue ensuite :

1° *Les techniques d'étude de la bactériostase en milieu liquide.* — Elles permettent de suivre photométriquement la croissance des germes en présence d'antibiotiques isolés et associés, dans un petit nombre de tubes. A condition que les concentrations choisies soient sub-inhibitrices, cette technique montrerait généralement un effet marqué de l'association sur le taux de croissance.

2° *Les techniques de diffusion en gélose.* — Elles consistent à comparer les zones d'inhibition avec des disques imprégnés de concentrations fixes d'antibiotiques isolés et associés. Les modifications du diamètre, pour l'association, sont difficiles à juger, à cause des sensibilités variables des germes, et des différences de vitesse de diffusion des antibiotiques.

*Interférences.* — C'est une application plus satisfaisante de la technique de diffusion, pour l'étude des associations d'antibiotiques. Deux bandes de papier, imprégnées avec chaque antibiotique, sont disposées à angle droit. La culture est inhibée par chaque antibiotique suivant une zone parallèle à la bande de papier, et les phénomènes d'addition peuvent se lire dans l'angle formé par l'intersection des deux zones d'inhibition.

3° *Les techniques d'étude du pouvoir bactéricide.* — Elles varient avec les auteurs, mais après contact des germes avec les associations d'antibiotiques, ils effectuent la numération des survivants, ou étudient la vitesse de croissance qui serait parallèle à leur nombre.

CHABBERT conclut :

« Les techniques de détermination du pourcentage des survivants semblent actuellement les meilleures pour déterminer la valeur des associations d'antibiotiques sur un germe donné ».

## Modalités de l'association

En matière d'association, il y a trois possibilités (4) :

« Lorsque deux substances chimiques différentes ayant une action anti-bactérienne se trouvent en présence l'une de l'autre, elles peuvent s'annihiler, c'est l'antagonisme. Ex. : P.A.B. et Sulfamides;

» soit agir indépendamment et exercer chacune sa propre action anti-bactérienne, c'est l'*action additive pure et simple*. Ex. : action combinée de trois ou quatre sulfamides différents ;

» soit enfin exacerber dans le même sens l'action anti-bactérienne exercée par chacune d'elles, c'est la *potentialisation de l'action*, soit le vrai sens étymologique du mot grec synergie : agir ensemble. »

Ces faits, sur le plan in vitro, sont analysés plus finement par Coletsos qui distingue cinq degrés dans l'échelle de la synergie. L'unité bactériostatique est la quantité d'antibiotique, variable pour chacun d'eux, selon les différents milieux, qui est capable de provoquer l'effet bactériostatique.

Si l'unité bactériostatique d'un antibiotique A ou B utilisé seul est désigné par le chiffre 1, les différents degrés d'activité bactériostatique des deux antibiotiques A et B, utilisés en association, sont définis comme suit (2) :

$\frac{A)}{B)}$ aa $1/2 = 1$ : synergie simple, ou effet additif, ou addition simple.

$\frac{A)}{B)}$ aa $< 1/2 = 1$ : synergie renforcée, ou effet multiplié, ou potentialisation, ou renforcement d'action.

$\frac{A)}{B)}$ aa $> 1/2$ et $< 1 = 1$ : effet additif partiel, ou synergie relative.

$\frac{A)}{B)}$ aa $1 = 1$ : asynergie ou indifférence.

$\frac{A)}{B)}$ aa $> 1 = 1$ : antagonisme.

### Choix des associations

L'expérimentateur peut choisir une association à deux ou plusieurs antibiotiques et faire varier les concentrations. Ce dernier facteur peut être à l'origine de résultats discordants chez des auteurs différents. En effet, le biologiste anglais Bigger, analysant le phénomène de synergie et d'antagonisme de trois substances antibiotiques, combinées à des antiseptiques donnant 16 mélanges différents, arrive à la conclusion que, dans certains cas, l'action, qui est synergique jusqu'à une certaine concentration, devient antagoniste lorsqu'on la dépasse.

## CHAPITRE II

# RESULTATS DES EXPERIENCES

Il était dans nos intentions de passer en revue toutes les expériences in vitro concernant l'action des associations d'antibiotiques sur le bacille tuberculeux. Mais l'abondance de publications nous fait renoncer à un projet qui aboutirait à une énumération longue et fastidieuse. Nous nous bornerons à étudier plus spécialement quelques expériences réalisées en France, puis nous comparerons leurs résultats avec ceux des différents auteurs étrangers.

## 1° DE QUELQUES EXPÉRIENCES FRANÇAISES

### Mme Aitoff (6)

a recherché la valeur de l'association I.N.H. - P.A.S. à partir de la souche H. 37 Rv. Elle ensemence des tubes contenant un milieu liquide de Dubos additionné d'antibiotiques à des concentrations croissantes. Lorsque l'I.N.H. est utilisé seul, on constate un pouvoir inhibitif bien supérieur au pouvoir bactéricide. Au bout de dix jours, la culture est inhibée à la concentration $10^{-8}$. Pourtant, il ne s'agit que d'une action bactériostatique, puisque, dans les jours qui suivent, la culture se développe à des dilutions moindres. Au bout d'un mois, le microbe cultive à des taux inférieurs à $10^{-6}$.

*I.N.H. - P.A.S.* — L'association a un effet synergique très net, surtout dans les proportions de 1 partie d'I.N.H.

pour 100 parties de P.A.S. C'est ainsi que l'association de 1/2.000.000 de P.A.S. et de 1/200.000.000 d'I.N.H. produit un effet bactéricide. Il s'agirait donc d'une *synergie avec potentialisation.*

Mme Aitoff et Mlle Salas (4)

ont recherché la valeur de l'association streptomycine - I.N.H. Elles utilisent aussi la souche H. 37 Rv, le milieu liquide de Dubos et des concentrations croissantes.

Au bout de 17 jours d'étuve, l'inhibition s'arrête à 0,05 mcg dans les tubes contenant seulement de l'I.N.H., et à 0,5 mcg dans ceux contenant seulement de la streptomycine.

*Streptomycine - I.N.H.* — Pour étudier une synergie possible, elles associent donc 10 parties de streptomycine et 1 partie d'I.N.H. et réalisent une gamme de concentrations croissantes. Elles constatent alors que le dernier tube clair est celui qui contient 0,2 mcg de streptomycine et 0,02 mcg d'I.N.H. Les auteurs concluent à une *action additive*, plutôt qu'à une synergie vraie. De plus, elles font part d'une constatation intéressante : alors qu'après 14 à 20 jours d'étuve, les bacilles tendent à pousser à des concentrations de plus en plus fortes, dans les tubes contenant, soit de la streptomycine, soit de l'I.N.H., ceci ne se produit pas en cas d'association I.N.H. - P.A.S. et streptomycine - I.N.H.

Coletsos (7)

réalise, dans une première expérience en milieu solide, 11 types d'association avec divers antibiotiques, dont deux seulement actuellement utilisés en thérapeutique, la streptomycine et le P.A.S.

L'ensemencement est réalisé avec les souches H. 37 Rv et Brévannes et à la concentration constante de $10^{-4}$ par tube. La lecture a été pratiquée plusieurs fois, mais les résultats publiés sont ceux du 31$^{e}$ jour de culture.

On constate l'existence, dans les conditions de l'expérience d'une synergie renforcée pour l'association streptomycine - P.A.S.

D'une manière générale, l'auteur a observé une synergie renforcée dans les associations couplées, une synergie simple dans les associations triples, et une synergie relative dans les associations quadruples.

COLETSOS (2)

compare, dans une seconde expérience, la valeur des différents types d'association réalisés avec la streptomycine, l'I.N.H. et le P.A.S., ceci en milieu solide et en milieu liquide. Ce sont encore les souches H. 37 Rv et BRÉVANNES qui sont utilisées.

Les résultats seront appréciés, en milieu solide, par la numération des colonies bacillaires; en milieu liquide, par l'intensité de la culture. Préalablement, l'auteur recherche les doses de chaque antibiotique employé seul, qui assure la bactériostase. Elles varient avec les milieux de culture, comme nous l'avons écrit précédemment (page 17). La lecture est effectuée plusieurs fois, mais les résultats publiés sont ceux du 14e jour.

*Streptomycine - P.A.S.* — Les résultats sont sensiblement les mêmes en milieu solide et en milieu liquide : avec le quart du taux bactériostatique de chaque antibiotique, on obtient presque le même résultat qu'avec l'unité bactériostatique de l'un ou de l'autre. Conclusions : *Synergie renforcée.*

*Streptomycine - I.N.H.* — L'effet obtenu avec la moitié, le quart ou le huitième du taux bactériostatique normal de streptomycine est rigoureusement le même que celui obtenu avec la même quantité de streptomycine, additionnée du taux bactériostatique équivalent d'I.N.H. Ceci est vrai en milieu solide et en milieu liquide.

Dans les associations comprenant un taux fixe d'I.N.H. et des taux progressivement décroissants de streptomycine, et vice-versa, c'est l'antibiotique qui se trouve à la concentration la plus élevée qui l'emporte, et agit comme s'il était seul, l'autre antibiotique ne jouant absolument aucun rôle actif. *Conclusion : asynergie ou indifférence; pas d'antagonisme décelable.*

*I.N.H. - P.A.S.* — Les résultats varient un peu avec les milieux utilisés.

*En milieu solide*, l'association d'une demi dose de P.A.S. à une demi-dose d'I.N.H. donne des colonies isolées, et non pas la culture négative obtenue avec l'unité bactériostatique d'un seul antibiotique : *Conclusion : effet additif partiel.*

*En milieu liquide*, et plus particulièrement en milieu de Youmans, la culture est négative au 14e jour dans les tubes contenant une demi-dose de chaque antibiotique. L'effet est donc comparable à celui obtenu avec l'unité bactériostatique d'un seul antibiotique. *Conclusion : effet additif*, mais seulement à des taux suffisamment élevés, car, pour les associations comportant le quart du taux bactériostatique de chacun, cet effet additif ne se manifeste plus.

*Streptomycine - I.N.H. - P.A.S.* — La synergie due au couplage de la streptomycine au P.A.S. n'est ni renforcée, ni diminuée par la présence d'I.N.H., ce qui vient confirmer l'indifférence existant entre streptomycine et I.N.H. D'autre part, si l'on ajoute à cette triple association une certaine quantité d'acide para-amino-benzoïque, antagoniste du P.A.S., on constate ceci : l'effet bactériostatique de ces trois antibiotiques associés est réduit à celui d'un seul, du fait de l'action inhibitrice du P.A.B. sur le P.A.S. et de l'indifférence entre streptomycine et I.N.H.

Viallier, Serre et Cayre (8)

ont recherché l'action exercée par les associations streptomycine - I.N.H. et I.N.H. - P.A.S. sur la croissance in vitro

d'un certain nombre de souches peu sensibles ou non sensibles, dans les limites normales, à l'un ou l'autre de ces antibiotiques.

Le milieu de culture utilisé est celui de YOUMANS - Sérum de cheval. L'ensemencement est effectué avec des quantités équivalentes de bacilles, à partir d'une culture de 15 à 20 jours en milieu liquide de DUBOS. La lecture est pratiquée après 15 jours d'étuve à 37°.

*Streptomycine - I.N.H.* — L'association est réalisée sur les bases de 30 parties d'I.N.H. pour 100 de dihydro-streptomycine. Elle n'est jamais défavorable, et agit comme l'antibiotique le plus actif. Sur 16 souches, 3 seulement se montrent un peu plus sensibles à l'association qu'à l'antibiotique le plus actif, employé isolément. Il s'agit de souches peu sensibles, à la fois à la streptomycine et à l'I.N.H.

*I.N.H. - P.A.S.* — La recherche porte sur 18 souches. 8 ont une sensibilité à l'I.N.H. inférieure à 10 mcg par $cm^3$. 8 ont une sensibilité à l'I.N.H. comprise entre 1 et 10 mcg. 2 enfin ont leur croissance totalement inhibée par une concentration d'I.N.H. de 1 mcg par $cm^3$. Le P.A.S. est employé aux concentrations de 0,05 - 0,01 - 0,2 mcg par $cm^3$, et la sensibilité à l'I.N.H. est recherchée dans une zone allant de 0,05 à 0,20 mcg.

1° Bacilles fortement résistants à l'I.N.H. : l'adjonction de P.A.S. au milieu de culture n'a aucune influence. Les germes poussent normalement, malgré une concentration d'I.N.H. de 20 mcg par $cm^3$.

2° Pour 3 souches dont la sensibilité était comprise entre 10 à 20 mcg, aucune action n'est notée pour l'une d'elles. Il y a une action légère pour les deux autres.

3° Pour les autres souches à sensibilité diminuée, les résultats sont variables. La concentration minimum d'I.N.H. empêchant toute croissance bacillaire a été abaissée dans quelques cas par adjonction de P.A.S. au milieu.

L'association I.N.H. - P.A.S. n'a donc qu'une action limitée in vitro sur des souches peu ou non sensibles à l'I.N.H. Elle ne rend pas sensible à l'I.N.H. les souches qui ont acquis une résistance notable.

### Maral et Blandin (9)

Ces auteurs recherchent s'il existe in vitro un effet synergique additif ou antagoniste entre streptomycine et P.A.S. Ils étudient l'action du mélange streptomycine - P.A.S. à des concentrations variables. L'ensemencement est uniforme, et la lecture est faite après dix jours d'étude à 37°. Le milieu est celui de Dubos et Davis.

Les auteurs constatent que l'association streptomycine - P.A.S. a, vis-à-vis des souches de bacilles de Koch, une *action sensiblement additive.*

### Kitamoto et Rist (10)

Les auteurs rappellent d'abord les expériences in vitro qui prouvent que, en association, la streptomycine et le P. A. S. renforcent mutuellement leur action, et que le P. A. S. empêche l'apparition de souches streptomycino-résistantes. Ils décident ensuite d'étudier ce phénomène en milieu de Youmans - sérum, où il se manifeste de façon particulièrement frappante. Dans ce milieu, en effet, les B.K. cultivent, non pas en trouble homogène, mais sous forme de flocons ou de grains.

On sait que si l'on ensemence une population globalement sensible à 10 mcg par $cm^3$, dans un milieu streptomyciné à 10 mcg par $cm^3$, le milieu reste limpide, mais, après trois à cinq semaines, apparaissent quelques grains, qui sont des colonies de bacilles résistant à 10 mcg ou plus (22).

Les auteurs refont la même expérience en en comparant les résultats avec ceux que fournissent l'association streptomycine - P.A.S.

Ils ensemencent dans 5 $cm^3$ de milieu de Youmans 0,01 mcg de la souche H. 37 Rv, ceci dans des tubes conte-

nant, soit de la streptomycine, soit du P.A.S., soit un mélange à quantités variables de streptomycine et de P.A.S. Au 21e jour :

Dans les tubes contenant 0,25 mcg de streptomycine, il y a de nombreuses colonies. Dans ceux qui en contiennent 0,5 mcg, il n'y a plus que 10 à 30 colonies. Dans ceux qui en contiennent 1 mcg, on note seulement 1 à 5 colonies. Ces colonies, repiquées en milieu de Dubos, puis retitrées en milieu de Youmans avec un ensemencement de 0,01 mg, cultivent abondamment en présence de 5 mcg de streptomycine. Il y a quelques colonies pour les concentrations de 10 à 20 mcg. Par contre, elles sont sensibles à 1 mcg de P.A.S. comme la population primitive.

Lorsque les tubes contiennent de la streptomycine et des concentrations très faibles de P.A.S., les colonies apparaissent plus tardivement (28e jour), et sont plus rares que dans les tubes contenant seulement de la streptomycine. Ces colonies repiquées en milieu de Dubos, puis retitrées en milieu de Youmans, donnent naissance à des germes globalement résistants à 5 mcg de streptomycine et sensibles à 1 mcg de P.A.S., comme précédemment.

Les colonies manquent totalement, au 35e jour, à partir des concentrations 0,5 mcg de streptomycine et 0,1 mcg de P.A.S., ou 1 mcg de streptomycine et 0,025 mcg de P.A.S.

Il est donc évident que la multiplication des bacilles streptomycino-résistants a été, selon la concentration en P.A.S., retardée ou empêchée par la présence de P.A.S. Il y aurait, par conséquent, une *synergie avec potentialisation.*

Rist (11)

décrit deux types d'expériences :

1° *La recherche de l'effet bactériostatique des associations.* — Elle est réalisée en milieu de Youmans · sérum, ensemencé par 0,01 mg d'une souche H. 37 Rv. La lecture se fait au 10e jour. L'auteur note, pour l'association strepto-

I.N.H., un effet synergique léger moins qu'additif; pour l'association I.N.H. - P.A.S., une potentialisation légère; pour l'association streptomycine - P.A.S., une potentialisation légère également.

2° *La recherche des effets bactériolytique et bactéricide des associations.* — Avec des quantités d'antibiotiques supérieures aux taux bactériostatiques, on voit survenir bactériolyse et bactéricidie.

*I.N.H. - P.A.S.* — En ajoutant 2,5 mcg de P.A.S. à 0,15 mcg d'I.N.H., on accentue très légèrement la bactériostase, puis la bactériolyse due à l'I.N.H. seul. Il y a un retard de huit jours à la multiplication des résistants à l'I.N.H., dont la pousse devient visible à l'œil nu.

*Streptomycine - I.N.H.* — L'addition de 2,5 mcg de streptomycine à 0,15 mcg d'I.N.H. provoque, au contraire, une bactériostase immédiate, puis une bactériolyse totale, sans resurgence de bacilles résistants. Ainsi, dans ce type d'expérience, l'association streptomycine - I.N.H. est très supérieure.

Si la population initiale est plus réduite, le P.A.S. peut empêcher la pousse des bacilles résistants à l'I.N.H. Mais le mélange P.A.S. (5 mcg) et I.N.H. (0,15 mcg) provoque une bactériostase différée et une bactériolyse tardive, alors que le mélange streptomycine (0,5 mcg) et I.N.H. (0,15 mcg) provoque une bactériostase immédiate et une bactériolyse précoce, la concentration de streptomycine étant cependant dix fois plus faible que celle du P.A.S.

## 2° RÉSUMÉ DES EXPÉRIENCES FRANÇAISES ET ÉTRANGÈRES

Nous pouvons maintenant rapprocher les conclusions de ces différents travaux de celles des travaux étrangers, comme l'on fait Etienne Bernard, Kreis et Rist (12).

### Association Streptomycine - P.A.S.

| | |
|---|---|
| *Potentialisation* ..... | Vennesland (13), Coletsos (7), Hurni (14), Espersen (15), Kitamoto et Rist (10) |
| *Addition* ..... | Youmans (16), Maral (9). |
| *Indifférence* ..... | Proctor (17). |

### Association Streptomycine - I.N.H.

| | |
|---|---|
| *Potentialisation* ..... | Ilavsky (18), Masi (19). |
| *Addition* ..... | Szybalski (20). Aitoff (4). |
| *Synergie moins qu'additive* . | Pansy (21), Rist (11). |
| *Indifférence* ..... | Coletsos (2). |

### Association I.N.H. - P.A.S.

| | |
|---|---|
| *Potentialisation* ..... | Aitoff (6), Masi (19), Rist (11). |
| *Addition* ..... | Szybalski (20), |
| *Synergie moins qu'additive* . | Coletsos (2). |

## CHAPITRE III

# DISCUSSION DES RESULTATS

### 1° Comment expliquer la divergence des résultats énoncés ?

La variété des réponses données par les différents auteurs fait supposer qu'elle dépend autant des conditions d'expérience que de l'association éprouvée.

Rist (11) s'est attaché à démontrer le rôle capital que jouent, dans les expériences d'association, ces deux facteurs expérimentaux: *l'ensemencement et la durée de l'observation.* Pour ce faire, il a réalisé l'expérience consignée dans le tableau suivant :

| Inoculum | 0,01 mg | | | 0,1 mg | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lecture | 10 jours | | | 30 jours | | |
| | Strepto. | | I.N.H. | Strepto. | | I.N.H. |
| Concentrations inhibitrices en mcg ..... | 1,5 | | 0,04 | 5 | | 5 |
| Mélanges inhibiteurs en mcg ..... | 0,75 | + | 0,03 | 1 | + | 0,15 |
| Fractions de C.I. .... | 1/2 | + | 3/4 | 1/5 | + | 1/30 |
| | P.A.S. | | I.N.H. | P.A.S. | | I.N.H. |
| Concentrations inhibitrices en mcg ..... | 0,25 | | 0,04 | 5 | | 5 |
| Mélanges inhibiteurs en mcg ..... | 0,06 | + | 0,02 | 0,25 | + | 0,15 |
| Fractions de C.I. .... | 1/4 | + | 1/2 | 1/20 | + | 1/30 |

Ce tableau indique les concentrations totalement inhibitrices minima (C.I.) d'I.N.H., de streptomycine et de P.A.S.,

employés seuls ou en mélange, selon que l'on a ensemencé 0,01 ou 0,1 mg dans 5 ml de milieu, et observé la culture pendant 10 jours ou pendant 30 jours (souche H. 37 Rv, milieu de YOUMANS au sérum). L'inhibition totale est définie par l'absence de toute culture visible à l'œil nu.

» La concentration totale inhibitrice minimum en milieu de YOUMANS, au 10e jour, après un ensemencement de 0,01 mg de bacilles H. 37 Rv, est appelée, par, simplification, l'unité bactériostatique de chacun des médicaments. Cette unité représente :

0,25 mcg de P.A.S. par ml,
ou 1,5 mcg de streptomycine par ml,
ou 0,04 mcg d'I.N.H. par ml.

» Si l'on considère les fractions de C.I. qu'il faut associer pour obtenir l'inhibition complète, on concluera, selon la colonne de gauche, à une synergie faible moins qu'additive (streptomycine + I.N.H.), ou à une légère potentialisation (P.A.S. + I.N.H.) et, selon la colonne de droite, au contraire, à une potentialisation tout à fait remarquable pour les deux mélanges. »

Quelles sont les raisons de ces phénomènes ? RIST les explique par le mode d'action des antibiotiques sur les germes.

En ce qui concerne la streptomycine : « La souche H. 37 Rv contient, si l'échantillon est assez important, quelques éléments deux à quatre fois plus résistants que la masse des bacilles de l'échantillon. Ces rares éléments se développent dans le milieu liquide de YOUMANS sous forme de petites colonies bien isolées, visibles dans les tubes à partir du vingtième jour. »

Pour l'I.N.H., « le mécanisme est le même, mais la souche H. 37 Rv contenant, dans 0,1 mg de culture, comme la plupart des souches, des éléments cent fois plus résistants que l'ensemble de la souche, il faut élever de 0,04 à 5 la

concentration d'I.N.H. pour empêcher leur développement. »

Enfin, pour le P.A.S., « la résistance joue un rôle plus effacé. La principale raison de l'élévation de la C.I. avec le poids de l'ensemencement est la suivante : le P.A.S. n'arrête la multiplication du bacille qu'après un certain temps de latence au cours duquel le bacille peut se multiplier de deux à huit fois, et d'autant moins que la concentration en P.A.S. est plus élevée. Pour empêcher un inoculum de 0,1 mg. dans 5 ml. de milieu de devenir visible à l'œil nu, il faut une concentration de P.A.S. de 5 mcg., alors qu'il suffit d'une concentration de 0,25 mcg pour empêcher l'inoculum de 0.01 mg. de devenir visible à l'œil nu. »

Ainsi ce tableau permet de mettre en évidence deux sortes d'expériences :

1° L'une permet d'apprécier les *convergences ou synergies* de deux médicaments sur un même germe, sensible aux deux médicaments.

2° L'autre consiste à *empêcher l'apparition des germes résistants* en cas d'association streptomycine - I.N.H., par exemple, par les effets parallèles de l'I.N.H. sur les résistants à la streptomycine et vice versa. Il en est de même avec les associations I.N.H.-P.A.S. avec une complication supplémentaire : le temps de latence dont il a été question ci-dessus.

### 2° Mécanisme de l'action des associations

Cette mise au point va permettre de comprendre le mécanisme des synergies antibiotiques. Si, en effet, on associe deux médicaments directement anti-bacillaires, il semble que l'on en puisse attendre quatre résultats (12) :

« 1° Empêcher le développement des bacilles résistants à un premier médicament, en assurant l'atteinte de ceux-ci par un second médicament auxquels ils sont sensibles;

» 2° Altérer la vitalité de chaque bacille plus gravement par deux armes à la fois que par une seule;

» 3° Atteindre par un des médicaments les bacilles protégés vis-à-vis de l'autre par leur localisation ;

» 4° Diminuer les dangers d'intoxication du malade en remplaçant une dose forte d'un médicament par de faibles doses de deux médicaments, dont les toxicités pour l'hôte se manifestent sur des organes différents, mais dont les activités s'ajoutent au regard de chaque bacille. »

De ces quatre résultats, seul le premier semble prouvé: pour toutes les souches de bacilles, il existe quelques individus plus résistants que les autres à un antibiotique donné.

Si l'on ensemence un grand nombre de bacilles, les chances d'ensemencer les quelques germes résistants à cet antibiotique sont augmentées. En réalisant dans les tubes des concentrations croissantes de l'antibiotique, on voit, dès le dixième jour, une culture abondante dans les premiers tubes, les tubes suivants restant clairs. Mais, vers les quinzième à vingtième jours, il se constitue, dans ces derniers, de petits grains (milieu Youmans-sérum) qui sont des colonies, composées de bacilles résistants à la concentration de l'antibiotique de ces tubes (22).

Ces colonies ne se constituent pas au vingtième jour si l'on ajoute un autre antibiotique à une concentration, insuffisante en elle-même à empêcher tout développement.

### 3° Intérêt des associations

Nous avons vu qu'il est possible d'obtenir une inhibition totale avec la concentration inhibitrice minimum (C.I.), mais celle-ci varie de façon considérable selon les antibiotiques, la souche considérée et le nombre de bacilles ensemencés (12).

Si l'on accepte le principe qu'à l'unité bactériostatique d'un antibiotique correspond un équivalent clinique, ou dose cliniquement efficace, il faut (12) : « pour passer de

la dose cliniquement efficace à une dose certainement bactériostatique pour le bacille le plus résistant de l'organisme malade, multiplier par 4, 8, 30 ou même plus, la dose habituelle de streptomycine, et par 15 ou 60, celle de l'I.N.H. » Cette constatation conduit donc à une impasse, car il est impossible, en clinique, d'augmenter les doses de médicaments dans ces proportions.

Or les associations peuvent nous faire sortir de cette impasse : ensemençons, en effet, 0,1 mg de bacilles dans une série de tubes contenant une unité bactériostatique d'un antibiotique. Si l'on cherche la concentration nécessaire d'un autre antibiotique associé pour empêcher l'apparition des grains résistants au vingtième jour, on voit que cette concentration est habituellement égale à une unité bactériostatique.

Ainsi, la bactériostase totale, qu'on ne peut obtenir qu'avec 8 unités bactériostatiques de streptomycine ou 60 unités d'I.N.H. par exemple, sera obtenue par l'association d'une unité bactériostatique de ces deux médicaments.

DEUXIEME PARTIE

# ÉTUDES IN VIVO

## CHAPITRE PREMIER

# CONSIDERATIONS TECHNIQUES

### Choix de l'animal et du mode d'inoculation (5)

Les animaux de laboratoire sont nombreux. En fait, les plus utilisés pour l'étude de la tuberculose expérimentale sont : le cobaye, le lapin, la souris. Les techniques d'inoculation sont variées et donnent des résultats un peu différents, aussi importe-t-il de connaître, au moins dans leurs grandes lignes, les techniques et les résultats. Les voies d'inoculation les plus souvent rencontrées, au moins dans les travaux de ces dernières années, sont les voies sous-cutanée, intra-dermique et oculaire.

I. — Le cobaye. — C'est l'animal sensible par excellence.

a) *L'inoculation sous-cutanée :*

Elle va donner l'évolution suivante : *localement*, au bout de quelques jours, inflammation avec un peu d'œdème. 6 à 10 jours après apparaît un ganglion.

*Etat général :* au bout de 3 à 4 semaines, l'animal maigrit, son état s'altère, sa température passe de 38 à 39° 5; en 8 à 10 semaines il meurt cachectique.

*A l'autopsie*, le ganglion initial est très gros, il contient un pus épais et crémeux. Les lésions sont généralisées, particulièrement au foie, à la rate, aux poumons, avec tubercules et régions hépatisées. Les ganglions trachéo-bronchiques sont caséeux.

La dissémination s'effectue plus ou moins rapidement. Les germes inoculés dans l'aine, par exemple, atteignent, en 12 à 24 heures, le plexus lymphatique sous-abdominal et suivent le canal thoracique.

Il y a alors deux voies à considérer :

une voie lymphatique,

une voie sanguine, qui assurent la diffusion à tout l'organisme.

b) *L'inoculation intra-dermique :*

Elle se pratique comme l'intra-dermo-réaction. L'inoculation se fait dans l'épaisseur de la peau préalablement épilée.

*Evolution :* Selon les quantités de germes injectés, on voit apparaître, plus ou moins rapidement, un petit nodule qui grossit, se nécrose dans la partie centrale, donnant un ulcère croûteux, puis les ganglions lymphatiques s'hypertrophient et l'infection se généralise.

c) *l'inoculation par voie oculaire :*

Elle consiste à introduire les germes dans la chambre antérieure de l'œil, ou plus simplement à les déposer par instillation sur la conjonctive.

*Evolution :* Douze jours plus tard apparaît une forte inflammation de l'iris, puis se constituent des tubercules qui se développent et entraînent une panophtalmie. Il y a un engorgement des ganglions du cou puis des ganglions trachéo-bronchiques, et enfin les poumons et les viscères abdominaux sont atteints.

d) *Les autres modes d'inoculation :*

Ils sont moins utilisés et nous ne ferons que les citer :

Inoculation intra-ganglionnaire,

» par voie péritonéale,

» par voie transcutanée,

» intra-musculaire et intra-cardiaque,

Inoculation de la veine saphène,
» intra-cérébrale et intra-méningée,
» intra-rachidienne,
» par voie digestive,
» par voie rectale et vésicale,
» par voie respiratoire et pleurale,
» par voie intra-mammaire,
» par voie intra-vésiculaire,
» par voie intra-articulaire.

Chacune de ces voies présente un intérêt particulier dont le détail sortirait des limites de cet exposé. Par exemple, les voies digestive et respiratoire se rapprochent le plus des conditions normales de l'infection humaine.

II. Le lapin. — Les divers modes d'inoculation déjà étudiés pour le cobaye peuvent être utilisés pour le lapin. Mais le lapin, très sensible au B.K. bovin, l'est beaucoup moins au B.K. humain.

a) *Inoculation sous-cutanée :*

Elle est suivie d'une tuméfaction qui peut, suivant la dose, soit se résorber complètement et aboutir à la guérison, soit s'acheminer vers la formation d'un abcès. L'animal peut survivre indéfiniment, ou bien il maigrit et succombe.

*A l'autopsie*, on trouve des lésions variables : tantôt les poumons sont atteints de tubercules caséifiés, le foie, la rate et les ganglions étant respectés; tantôt c'est le tractus uro-génital qui est touché. Parfois la localisation a pu se faire uniquement sur une articulation ou un os.

Ainsi la tuberculose du lapin, provoquée par voie sous-cutanée, diffère de la tuberculose du cobaye et se rapproche beaucoup plus de la tuberculose humaine.

b) *Inoculation intra-dermique :*

Elle donne des résultats différents selon la race de bacille employée. Les bacilles bovins sont virulents à très faible

dose. et donnent des lésions viscérales extensives. Les bacilles humains ne sont pathogènes, semble-t-il, qu'à certaines doses.

c) *Inoculation par voie oculaire :*

L'inflammation de l'iris ne se voit que 15 à 30 jours après l'inoculation, puis l'évolution est à peu près la même que chez le cobaye.

d) *Inoculation par voie intra-veineuse :*

Elle a été utilisée avec succès et donne des lésions pulmonaires de façon constante.

Parmi les autres modes d'inoculation, les voies intra-péritonéales et par inhalation sont les plus utilisées.

III. Le rat et la souris.

a) *Inoculation intra-cutanée :*

Rat : En douze à vingt-quatre heures apparaît un œdème qui persiste trois ou quatre jours. Puis, en trois ou quatre semaines se constitue un petit abcès au point d'inoculation. Parfois l'évolution est rapide, et la mort survient en huit ou neuf semaines. Souvent l'évolution ne présente pas cette intensité. Dans quelques cas, l'inoculation est négative.

Souris : Elle est moins sensible que le rat à ce mode d'inoculation.

b) *Inoculation sous-cutanée :*

La souris est également moins sensible à ce mode d'inoculation que le rat.

c) *Inoculation intra-péritonéale :*

Elle constitue, pour le rat, la voie la plus sûre. La souris y est plus sensible encore. On obtient des lésions pulmo-

naires, accompagnées d'une intense multiplication des bacilles, même dans des organes non lésés, le foie et la rate notamment.

Parmi les autres voies, la voie veineuse et la voie digestive sont les plus employées.

Les autres animaux, tels le chien, le chat, le singe, n'ont pratiquement pas été utilisés pour la recherche de l'efficacité des associations d'antibiotiques sur la tuberculose expérimentale, nous les passerons donc sous silence.

### Choix du germe et de la dose infectante

Comme pour les études in vitro, le choix du germe a son importance. Là encore on peut s'adresser aux souches connues, moins connues, inconnues. Elles peuvent être sensibles aux divers antibiotiques ou résistantes à un de ceux-ci ou à plusieurs. Leur virulence peut être forte ou atténuée. La race bacillaire sera choisie en fonction de l'animal. Si le cobaye est également sensible au bacille bovin et au bacille humain, il n'en est pas de même pour le lapin, par exemple, dont la sensibilité est très grande pour le bacille bovin et faible pour le bacille humain.

Les doses de l'inoculum varient selon les animaux d'expérience et l'intensité de la tuberculose que l'on veut provoquer.

### Le mode d'inoculation

Le mode d'inoculation a déjà été traité pour chaque animal. Il a une très grande importance selon l'allure générale de l'affection que l'on veut obtenir. C'est ainsi que la voie oculaire permet de voir le développement de granulations tout à fait comparables à celles qui peuvent exister dans les différents viscères. L'action des antibiotiques peut donc s'observer de façon très satisfaisante sur l'évolution de ces lésions cornéennes, reflet fidèle de l'atteinte de l'organisme.

L'inoculation intra-dermique permet d'obtenir régulièrement, en même temps que des lésions viscérales généralisées, une escarre au point d'inoculation qui ne se cicatrise pas avant la mort de l'animal. Parfois on peut observer un certain degré de régression de ces ulcérations, mais elles ne guérissent jamais spontanément.

### Date du traitement par rapport a celle de l'inoculation

Elle est capitale, et l'on peut schématiser deux types d'expérimentation :

1° *Le test de protection :* il consiste à traiter l'animal d'expérience immédiatement ou le lendemain de l'inoculation virulente.

2° *Le traitement de la tuberculose constituée de l'animal :* On peut, en effet, laisser évoluer l'infection pendant quelques jours, et ne commencer le traitement que lorsque les lésions tuberculeuses se sont constituées de façon plus ou moins étendue.

Il serait vain de rechercher quelle est la meilleure de ces deux méthodes qui, en fait, ne s'opposent pas mais se complètent.

La première permet avec tel antibiotique, ou telle association, de tenter de juguler l'infection tuberculeuse avant qu'elle ne se soit déclarée. En faisant varier les doses de médicaments, on obtiendra, par comparaison avec les animaux témoins non traités, un test de protection complète, un test de protection partielle ou pas de protection du tout. On saura ainsi, d'une part si tel médicament est actif, et, d'autre part, la dose de ce médicament qu'il convient de donner pour protéger l'animal. Ceci peut donner une indication sur la dose qu'il faudra administrer en thérapeutique humaine, toutes proportions étant gardées.

La seconde a l'avantage d'apporter des précisions concernant l'action des médicaments sur des lésions qui ont eu le temps de se constituer et aussi d'apprécier les remaniements que l'on peut y observer. Elle se rapproche ainsi des conditions de traitement de la tuberculose humaine.

### Lecture des résultats

Il est inutile de souligner son extrême importance. Du sérieux et de la compétence avec lesquels elle est pratiquée dépendent les conclusions de l'expérience. Il y a là un facteur subjectif d'appréciation qui n'est pas négligeable.

On juge les résultats obtenus de différentes façons :

1° Sur les signes généraux : courbes de température, courbes de poids.

2° Sur les signes locaux : état du point d'inoculation, particulièrement pour les inoculations par voies oculaire et intra-dermique.

3° Sur les signes macroscopiques d'autopsie : état des différents viscères, quotation des lésions.

4° Sur les signes microscopiques : examen anatomo-pathologique des pièces d'autopsie. Recherche des B.K.

5° Sur les signes biologiques : recherche des réactions tuberculiniques, culture de fragments d'organes, réinoculation; des organes totalement sains en apparence peuvent cependant se montrer tuberculogènes pour l'animal, surtout le cobaye, particulièrement sensible.

### Difficulté et intérêt de la méthode

Les difficultés de la méthode ont déjà été évoquées à plusieurs reprises. Elles sont d'ordre divers. Il n'y a pas de rapports étroits entre la tuberculose provoquée chez l'animal et la tuberculose humaine : les différentes manières de réagir au même mode d'inoculation pour des animaux d'espèces différentes, et même pour des animaux de même

espèce, mettent en valeur un facteur individuel important. Il devient donc difficile de comparer entre eux des résultats obtenus chez des animaux d'espèces différentes. Il est encore plus ardu d'assimiler à la tuberculose de l'homme des résultats obtenus chez des animaux tuberculisés artificiellement.

De plus, le cobaye, par exemple, animal d'expérience très utilisé, présente une absence totale de défense de son organisme contre l'infection tuberculeuse, ce qui le rend très différent de l'homme. Des substances capables de renforcer les moyens de défense de l'organisme humain peuvent se montrer d'utiles médicaments et conduire cependant à des résultats négatifs chez le cobaye.

Le plus souvent l'homme tuberculeux, en dehors de la tuberculose de primo-infection, a viré ses réactions tuberculiniques longtemps avant de tomber malade. Qu'il s'agisse de réinfection endogène ou exogène, son organisme a déjà subi auparavant, avec succès, la première atteinte virulente. Chez l'animal d'expérience, on traite, en fait, une primo-infection très grave, provoquée par des doses considérables de bacilles. Le traitement est poursuivi plus ou moins longtemps et, habituellement, les animaux sont alors sacrifiés. L'étude porte donc sur l'action immédiate du traitement, mais pratiquement pas sur le devenir lointain des animaux.

Et, cependant, l'intérêt de la méthode est très grand :

Il est insuffisant de savoir qu'un médicament est actif in vitro. Il faut connaître sa toxicité et avoir une idée des doses dangereuses pour l'homme, mais aussi des doses actives en pathologie humaine. Comment apprécier ces données inséparables de toute thérapeutique, sinon par l'expérimentation, qui représente le dernier pas à franchir avant l'application humaine ?

En conclusion, il ne faut pas trop demander à l'expérimentation sur l'animal. Elle peut fournir des impressions

d'importance variable et toujours intéressantes, mais il faut se garder d'extrapoler de l'animal à l'homme de façon rigoureuse. Les conditions d'expérimentation sur l'animal et celles de la thérapeutique humaine sont trop différentes en bien des points. Cependant, le clinicien sera bien aise de pouvoir s'appuyer sur des faits expérimentaux solides, avant d'employer en thérapeutique des médicaments nouveaux et mal connus, ou des techniques nouvelles d'administration.

Ceci, d'autant que le laboratoire nous a appris, en matière d'association médicamenteuse, l'existence heureuse des synergies, mais aussi, malheureusement, celle des antagonismes.

## CHAPITRE II

## RÉSULTAT DES EXPÉRIENCES

Le but que nous nous sommes fixé étant l'étude des associations, nous éliminons les nombreuses expériences réalisées pour apprécier la valeur intrinsèque ou comparée de la streptomycine, du P.A.S. et de l'I.N.H., employés séparément. Qu'il s'agisse des expériences françaises (24, 25, 26, 27, 28...), ou étrangères (29, 30, 31, 32, 33...), l'accord est fait sur l'activité de ces antibiotiques. On sait que les doses utiles d'I.N.H. sont plusieurs fois plus faibles que celles de streptomycine, et que le P.A.S. n'est vraiment actif qu'à des doses élevées (34), d'ailleurs plus ou moins bien supportées par l'animal (25).

Nous classons les expériences in vivo sur les associations d'antibiotiques selon les deux catégories :

1° Test de protection,

2° Traitement de la tuberculose constituée de l'animal.

### I. — Test de protection

Desbordes et Galland (34)

ont recherché la valeur de l'association I.N.H. - P.A.S. chez des cobayes ayant reçu, par voie intra-dermique, 2/10 de $cm^3$ d'une souche D.S. titrant 0,5 mg par $cm^3$ (poids humide).

Ils établissent préablablement les doses d'I.N.H. et de P.A.S. qui, employés seuls, assurent une protection complète ou partielle. Ce test de protection se juge sur l'état

de la peau, des ganglions et de la rate. Il est déterminé ainsi :

| | Peau | Ganglions | Rate |
|---|---|---|---|
| *Pas de protection* .... | ++ | ++ | ++ |
| *Protection complète* .. | — | — | — |
| *Protection partielle* .. | + | + | — |

C'est ainsi que, pour l'I.N.H., une dose de 4 mg. par kg. assure une protection complète. Il faut, pour le P.A.S., une dose de 300 mg. par kg. per os associée à une dose de 400 mg. par kg. en injection sous-cutanée, pour réaliser une P.A.S.-hémie voisine de celle que l'on obtient en thérapeutique, et donner une protection partielle.

*Première expérience*

36 cobayes sont mis en expérience. Pour juger de l'efficacité de l'association I.N.H. - P.A.S., certains animaux reçoivent, pour pouvoir comparer, de la streptomycine, ou du P.A.S., ou de l'I.N.H., ou servent de témoins.

Le traitement est commencé le jour de l'inoculation, et il est poursuivi tous les jours pendant 21 jours.

6 *témoins* présentent les lésions habituelles, schématisées ++, ++, ++.

6 *cobayes*, traités par 42 mg. de streptomycine par kg., en deux injections quotidiennes, présentent le test de protection complète —, —, —.

6 *cobayes*, traités par 30 mg. de streptomycine par kg., en deux injections quotidiennes, présentent le test de protection partielle +, —, —.

6 *cobayes*, traités par 400 mg. de P.A.S. par kg. en injection, + 300 mg. de P.A.S. par kg. per os, présentent le text de protection partielle +, +, —.

6 *cobayes*, traités par l'association 1,7 mg. d'I.N.H. par kg. per os, + 400 mg. de P.A.S. par kg. en injection, présentent le test de protection complète —, —, —.

6 *cobayes*, traités par 1,7 mg. d'I.N.H. par kg. per os, présentent un test de protection complète —, —, —.

*En résumé*, il n'est pas possible d'apprécier s'il existe une synergie pour l'association I.N.H. - P.A.S., puisque la faible dose de 1,7 mg. d'I.N.H. donnée seule donne encore un test de protection complète, contrairement aux prévisions des auteurs.

*Deuxième expérience*

Dans une seconde expérience, conduite dans les mêmes conditions, mais poursuivie 30 jours, 12 cobayes sont répartis de la façon suivante :

4 *cobayes* sont traités par l'association de 1,5 g. de P.A.S. par kg. en injection sous-cutanée, + 4 mg. d'I.N.H. par kg. en injection.

4 *cobayes* sont traités par 1,5 g. de P.A.S. par kg. en injection.

4 *cobayes* sont traités par 4 mg. d'I.N.H. par kg. en injection.

*En résumé*, il est pratiqué, au 30e jour, un examen histologique qui montre des lésions discrètes dans les trois lots. Mais les animaux traités par l'association I.N.H. - P.A.S. présentent des lésions profondément remaniées avec processus de cicatrisation. Les auteurs insistent sur ce fait, « comme si l'action antibiotique, plus puissante, avait commencé avant celle observée avec l'emploi des médicaments séparés. »

GERNEZ-RIEUX, TACQUET, FABRE et VOISIN (25)

Ces auteurs ont expérimenté sur le cobaye et sur le lapin.

1° COBAYES. — Ceux-ci sont inoculés par voie intra-dermique. Cinq souches sont utilisées.

Le traitement est appliqué le lendemain de l'inoculation. La thérapeutique, quotidienne, est arrêtée le 32e jour. Le 34e

jour, les animaux sont sacrifiés. Les résultats peuvent être appréciés par l'observation des lésions locales provoquées par l'inoculation intra-dermique, car, dans tous les cas, ces derniers ont été le reflet très fidèle des lésions viscérales et ganglionnaires.

Préalablement, les auteurs recherchent in vivo les doses minima actives des substances antibiotiques, en réalisant des gammes thérapeutiques étendues. Ce sont celles qui préservent l'animal des lésions cutanées apparaissant normalement dans les jours qui suivent l'inoculation. Elles sont, dans les conditions de l'expérience, de 4 mg. pour la streptomycine, de 1 mg. pour l'I.N.H., de 200 mg. pour le P.A.S.

Les auteurs recherchent alors la valeur des associations streptomycine-I.N.H. et I.N.H.-P.A.S. Pour ce faire, ils associent des doses de produits inférieures ou égales à la moitié de la dose minima active, et constatent :

*L'association streptomycine - I.N.H.* se révèle totalement dépourvue d'effet synergique à doses inférieures à la moitié des doses minima actives. A doses égales à la moitié de ces dernières, il est possible de prévenir l'apparition des abcès et des ulcérations, mais de façon inconstante et incomplète. L'effet est à peine supérieur à celui observé avec la même dose d'I.N.H. utilisé isolément.

*L'association I.N.H. - P.A.S.* semble, par contre, douée d'une synergie avec potentialisation, puisque l'association de doses inférieures à la moitié de la dose minimum active (0,4 mg. d'I.N.H. et 75 mg. de P.A.S.) inhibe totalement l'apparition des abcès et des ulcérations.

2° Lapins. — Les auteurs recherchent d'abord la dose minimum active. C'est celle qui, administrée tous les jours, depuis le lendemain de l'inoculation, empêche l'apparition de lésions pulmonaires (dépistage radiologique) le 30e jour après l'inoculation. Cette dernière est faite par voie intraveineuse à la dose de 1 ml. d'une dilution au 1/20 d'une culture de bacilles bovins (souche Ravenel), de 10 jours, en milieu de Dubos liquide.

Cette dose minimum active est, dans ces conditions expérimentales, de 50 mg. pour la streptomycine, de 6 mg. pour l'I.N.H. Les auteurs cherchent ensuite à préciser :

1° Si l'*association streptomycine - I.N.H.* montre une synergie d'action ou une activité purement additive : il n'y a pas, en fait, d'effet potentialisateur lorsqu'on emploie des doses inférieures au seuil d'activité.

2° Si cette *association* possède des propriétés bactériostatiques ou bactéricides : lorsqu'on emploie des doses égales ou supérieures au seuil d'activité, on empêche, pendant très longtemps, l'apparition des lésions radiologiques, même si le traitement est appliqué un temps très court (30 jours). Un des lapins ne présente aucune lésion tuberculeuse radiologiquement décelable au 284e jour.

*En conclusion,* l'association I.N.H. - P.A.S. bénéficie d'une réelle action synergique avec potentialisation, à doses inférieures au seuil d'activité.

L'association streptomycine - I.N.H. est surtout intéressante si ces médicaments sont associés à une dose égale ou supérieure à la dose minima active de chacun d'eux. De plus, chez le lapin, elle exerce un pouvoir protecteur prolongé très longtemps, même après un traitement de courte durée.

GOULDING et ROBSON (35)

ont réalisé deux expériences sur la souris et le lapin. Nous ne parlerons ici que de la première; la seconde trouvera sa place ultérieurement, car il s'agit de traitement portant sur des lésions constituées.

SOURIS. — Elles sont inoculées au niveau de la cornée avec des bacilles de souche bovine (1.000 germes environ). Le traitement est commencé le jour de l'inoculation, et il est poursuivi tous les jours pendant 28 jours. L'expérience porte sur 60 souris réparties en 4 groupes.

15 *souris témoins :* après 12 jours d'incubation, des tubercules se constituent sur l'œil. L'état des lésions est maximum vers le 30e jour.

15 *souris* sont traitées par 0,16 g. par kg. de streptomycine. L'incubation est prolongée, et il y a une légère diminution dans les progrès de la maladie.

15 *souris* sont traitées par 12 mg. par kg. d'I.N.H. Les résultats obtenus sont comparables à ceux du groupe précédent.

15 *souris* sont traitées par l'association streptomycine, 0,16 g. par kg. + I.N.H., 12 mg. par kg. On ne note aucun signe pendant les 28 jours du traitement, puis, chez quatre souris seulement, apparaissent des lésions. Mais elles se constituent de façon beaucoup plus lente et restent limitées dans leur étendue.

Lepri et Capalli (36)

recherchent l'action de l'*association streptomycine - I.N.H.* Ils inoculent des cobayes au niveau de la cornée et commencent le traitement 24 heures après l'inoculation. Le traitement est poursuivi tous les jours.

10 *cobayes témoins :* les lésions font leur apparition vers le 8e ou le 10e jour et atteignent leur maximum du 20e au 35e jour, avec parfois perforation du globe oculaire.

20 *cobayes* sont traités par 10 mg. d'I.N.H. par kg. Dix sont observés 25 jours. Les 10 autres sont observés quelques temps de plus. On ne note aucune lésion. Chez l'un d'eux apparaissent seulement, et de façon temporaire, une hyperhémie et un œdème de l'iris.

11 *cobayes* sont traités par l'association streptomycine, 50 mg. par kg. + I.N.H., 6 mg. par kg. Tous les animaux sont exempts de lésions.

Paraf, Desbordes et Rosenberg (37)

recherchent la valeur de l'*association P.A.S. - I.N.H.* Ils inoculent des cobayes par 1/10 de $cm^3$ d'une émulsion de ba-

cilles d'une souche J. Paraf et les traitent, dès le lendemain, tous les jours, pendant un mois.

1er *lot :* Les animaux reçoivent un mélange d'I.N.H. (4 mg. par kg.) et de P.A.S. (1,5 g. par kg.) en injection sous-cutanée avec hyaluronidase.

2e *lot :* Les animaux reçoivent du P.A.S. à la dose de 1,5 g. par kg. en injection sous-cutanée.

3e *lot :* Les animaux reçoivent de l'I.N.H. à la dose de 4 mg. par kg. en injection sous-cutanée.

Au bout d'un mois, l'autopsie montre des lésions discrètes pour les 3 lots. Mais, pour le lot traité par l'association I.N.H. - P.A.S., il y a, au point de vue histologique, un remaniement intense, avec processus de cicatrisation indiquant, semble-t-il, une synergie d'action des deux médicaments.

## Rist (11)

inocule des souris par voie intraveineuse, à la dose de 0,05 mg. de bacilles in Dubos, culture de 7 jours, souche H. 37 Rv. Le traitement est commencé le lendemain de l'inoculation. Il est poursuivi tous les jours, et dure 40 jours. Les résultats sont jugés sur l'indice lésionnel et sur la culture de fragments d'organes.

*Souris témoins :* Elles meurent entre le 22e et le 26e jour. Indice lésionnel, 4.

*Souris traitées par* 1 *mg. de streptomycine.* Indice lésionnel, 1,8. La culture à partir de 1/1000e de poumon donne de très nombreuses colonies.

*Souris traitées par* 0,05 *mg. d'I.N.H.* Indice lésionnel, 0,1. Le poumon entier cultivé donne 100 colonies.

*Souris traitées par l'association streptomycine,* 1 *mg.* + *I.N.H.*, 0,05 *mg.* Indice lésionnel, 0,1. La culture du poumon entier donne 2 colonies. Ainsi, la bactéricidie est plus complète lorsqu'on associe les deux médicaments.

## II. — Tuberculose constituée de l'animal

### Bloch et Col (38)

inoculent des cobayes par voie sous-cutanée, avec 0,1 mg. d'une culture in Dubos de deux semaines, souche H. 37 Rv. Quelques cobayes sont sacrifiés au 21e jour pour connaître le degré des lésions avant traitement, puis ce dernier est immédiatement institué. Il est poursuivi 24 jours pour certains animaux, et 45 jours pour les autres.

*Cobayes témoins :* Ils présentent les lésions étendues habituelles.

*Cobayes traités par 8 mg. de streptomycine :* Le traitement prévient la progression de la tuberculose, dans une certaine mesure.

*Cobayes traités par 250 mg. de P.A.S. :* Le traitement a un effet relativement favorable.

*Cobayes traités par la combinaison streptomycine, 8 mg. + P.A.S., 250 mg. : Le traitement associé* a un effet beaucoup plus favorable sur la tuberculose du cobaye que chaque médicament utilisé isolément.

### Goulding et Robson (35)

ont complété les expériences de protection de l'animal par la recherche de l'action de l'*association streptomycine - I.N.H.* sur la tuberculose constituée du lapin, provoquée par l'application, au niveau de la cornée, d'une solution contenant environ 300 germes du type bovin. Le traitement est commencé lorsque les lésions oculaires sont apparues avec netteté.

15 lapins sont divisés en 3 groupes. Un groupe reçoit de la streptomycine, un autre de l'I.N.H., le troisième un mélange de streptomycine - I.N.H. Les trois méthodes donnent des résultats appréciables mais incomplets. Il n'y a pas de différence significative dans les résultats des 3 groupes, et ceci à aucun stade.

### Maral et Blandin (39)

Ces auteurs ont étudié, chez le cobaye tuberculeux, l'action de la streptomycine associée au P.A.S., et plus particulièrement l'action de cette association sur le devenir de la streptomycino-résistance des germes.

Ils ont inoculé par voie sous-cutanée à 48 cobayes 0,1 mg. de bacilles. La moitié d'entre eux reçoit des bacilles streptomycino-sensibles (souche H. 37 Rv), l'autre moitié des bacilles streptomycino-résistants (souche F. O.). Chacun de ces deux lots est divisé en quatre groupes de six cobayes. Le traitement est commencé 16 jours après l'inoculation, et il est poursuivi tous les jours.

6 *cobayes témoins* présentent les lésions habituelles généralisées.

6 *cobayes sont traités par streptomycine pendant* 29 *jours.* La dose quotidienne de 0,010 g. est administrée en deux fois par voie intra-musculaire.

6 *cobayes sont traités par P.A.S. pendant* 34 *jours.* La dose quotidienne de 0,20 g. est administrée par voie intra-musculaire (8 jours), puis per-os, en raison de foyers de nécrose au point d'inoculation.

6 *cobayes sont traités par l'association streptomycine - P.A.S.* Les doses sont les mêmes que lorsque ces médicaments sont employés seuls. Le traitement est poursuivi 42 jours.

Les résultats sont appréciés selon l'indice moyen de tuberculisation.

L'action de la streptomycine, nette sur les germes sensibles, est nulle sur les germes résistants.

Le P.A.S. a une action relativement légère sur les deux souches, mais le traitement a été court, et on sait que le P.A.S. a un effet thérapeutique, surtout lorsque le traitement est prolongé assez longtemps (40).

L'*association streptomycine + P.A.S.* améliore légèrement l'action de la streptomycine dans le traitement de la

tuberculose du cobaye, due à la souche streptomycino-résistante. Elle n'améliore pas le résultat obtenu par la streptomycine dans le traitement de la tuberculose due à la souche sensible.

Les auteurs testent ensuite la sensibilité à la streptomycine des deux souches F.O. à germes résistants et H. 37 Rv à germes sensibles.

Pour la souche H. 37 Rv, la sensibilité demeure ce qu'elle était avant le passage sur le cobaye.

Pour la souche F.O., la résistance des germes issus des cobayes traités par la streptomycine est très augmentée. Elle reste la même pour ceux qui viennent des cobayes traités par P.A.S. Par contre, les germes provenant des cobayes traités par l'association streptomycine - P.A.S. ont une résistance augmentée par rapport à ce qu'elle était au départ. Elle reste cependant inférieure à celle des germes issus des cobayes traités par streptomycine seule (1.300 contre plus de 1.740).

RIST (11)

inocule des souris par voie intraveineuse, avec une dose de 0,05 mg. de bacilles in DUBOS, culture de 7 jours, souche H. 37 Rv. Le traitement est commencé 14 jours plus tard et il est poursuivi pendant 20 jours, quotidiennement.

*Souris témoins:* Elles meurent du 22e au 26e jour. Indice lésionnel, 4.

*Souris traitées par* 5 *mg. de streptomycine :* Indice lésionnel, 1,4. La culture de 1/1000e de poumon donne de très nombreuses colonies.

*Souris traitées par* 1 *mg. d'I.N.H. :* Indice lésionnel, 0,3. La culture de 1/1000e de poumon donne 125 colonies.

*Souris traitées par l'association streptomycine*, 5 *mg.* + *I.N.H.*, 1 *mg. :* Indice lésionnel, 0,3. La culture de 1/1000e de poumon donne 12 colonies.

En conclusion, la bactéricidie est plus complète si l'on associe les deux médicaments.

## CHAPITRE III

# NOTRE EXPERIENCE

### Etudes sur les traitements combinés d'izoniazide de streptomycine et de p.a.s. dans la tuberculose expérimentale du cobaye

P. Fréour, Ch. Woné et C. Marée (*Bordeaux*) (46)

Nous avons conduit cette expérience dans le but de chercher à mettre en évidence les avantages éventuels d'associations chimiothérapiques dans le traitement de la tuberculose du cobaye.

Les animaux furent inoculés par voie intradermique : 1/10 de $cm^3$ d'une culture de quatre jours de la souche H. 37 Rv in Dubos.

Ce mode d'inoculation a été étudié par Burnet et Mantoux (41) : « Tandis que l'inoculation intradermique provoque des lésions très précoces (constitution de la papule dès le 3$^e$ ou 4$^e$ jour), l'inoculation sous-cutanée ne donne une lésion locale que 10 ou 15 jours plus tard. De même, la réaction ganglionnaire est plus précoce pour l'inoculation intradermique. »

Il a été utilisé avec fruit par différents auteurs (42, 43, 34, 26, 44, 45). Gernez-Rieux (25) affirme : « L'examen précis des lésions viscérales et ganglionnaires et la détermi-

nation de l'index de tuberculisation a, dans tous les cas, confirmé l'observation des lésions locales provoquées par l'inoculation intradermique. »

Ainsi, l'évolution des lésions locales permet d'apprécier l'action des antibiotiques comme si l'on assistait à cette dernière sur les différents viscères de l'animal.

Les traitements furent entrepris sept jours après l'inoculation afin d'étudier l'efficacité thérapeutique et non pas le test de protection. Ils furent poursuivis trente et un jours, à raison de deux injections par semaine. Le traitement discontinu donne, selon certains auteurs, un résultat comparable à celui obtenu par le traitement quotidien : ainsi, le traitement de la souris par une dose d'I.N.H. de 7,5 mg. par kg. administrée tous les trois jours est aussi efficace que le traitement par une dose quotidienne de 2,5 mg. par kg. (47).

Cette technique d'administration nous a semblé intéressante parce qu'elle varie les conditions de l'expérience : la grande majorité des travaux expérimentaux utilise, en effet, un traitement quotidien.

Mais nous l'avons employée surtout parce qu'il est entré dans les habitudes du phtisiologue d'administrer fréquemment la streptomycine non plus tous les jours, mais tous les deux ou tous les trois jours, et ceci avec succès.

La surveillance des animaux porta sur la lésion cutanée ulcérative, sur la courbe pondérale et sur les lésions découvertes à l'autopsie pratiquée dix-neuf jours après la fin du traitement, soit cinquante-sept jours après l'inoculation.

Groupe A. — 6 *animaux témoins :* L'ulcération cutanée apparaît rapidement croissante sur un nodule inflammatoire. Après quatre semaines, elle tend à diminuer d'étendue par suite du bourgeonnement des bords, sans jamais cicatriser (60 $mm^2$).

La chute pondérale est minime (5%), mais les lésions macroscopiques sont très importantes, diffuses et très denses dans la rate, le foie, les poumons (40/72).

Groupe B. — 6 *animaux traités par streptomycine* à la dose de 25 mg., deux fois par semaine.

Les lésions cutanées furent franches, mais moins étendues (100 $mm^2$) que celles des témoins; elles rétrocédèrent sans cicatriser tout à fait.

La chute de poids fut de 10 %. Les lésions viscérales furent beaucoup moins importantes (20/72) que celles des témoins.

Groupe C. — 6 *animaux traités par isoniazide :* Par voie sous-cutanée, les animaux reçurent 25 mg. d'isoniazide deux fois par semaine.

La courbe pondérale, après une chute à peine perceptible, demeure autour du niveau initial.

Les ulcérations furent minimes (70 $mm^2$) sans bourrelet inflammatoire périphérique. Elles étaient toutes parfaitement cicatrisées quarante-deux jours après le début du traitement.

Par contre, l'autopsie des animaux montra des granulations pulmonaires fines et rares (4/72).

Groupe D. — 6 *animaux traités par P.A.S. :* 20 $cm^3$ de P.A.S. Debat à 3 %, injectés sous la peau de l'abdomen avec hyaluronidase et procaïne, deux fois par semaine.

La chute de poids fut de 10 %.

Les ulcérations furent très franches (80 $mm^2$), et ne guérirent dans aucun cas (30 $mm^2$).

Les lésions, surtout spléniques et pulmonaires, étaient importantes à l'autopsie (30/72).

Groupe E. — 6 *animaux traités par P.A.S. et isoniazide:* P.A.S. Debat 10 $cm^3$ à 3 % et 12,5 mg. d'isoniazide, deux fois par semaine.

Les ulcérations furent minimes (60 $mm^2$) et guérirent rapidement trente-quatre jours après le début du traitement. Le poids demeura pratiquement stationnaire.

A l'autopsie, les lésions étaient très discrètes, mais quelques granulations spléniques nous conduisent à les noter (6/72).

Groupe F. — 6 *animaux traités par streptomycine-isoniazide :* Afin d'étudier une éventuelle synergie, nous avons administré moitié dose de chacun des deux produits : 12,5 mg. de streptomycine et 12,5 mg. d'I.N.H., deux fois par semaine.

La courbe pondérale fut nettement ascensionnelle (de 10 %). Les ulcérations furent minimes (45 $mm^2$) et étaient toutes cicatrisées quarante-deux jours après le début du traitement. A l'autopsie, les lésions étaient fines, mais peut-être moins rares que dans le lot traité par isoniazide seul (9/72).

Groupe G. — 6 *animaux traités par streptomycine et P.A.S. :* 12,5 mg. de streptomycine et 10 $cm^3$ de P.A.S. à 3 %, deux fois par semaine.

Ce mode de traitement, par l'association de demi-dose des deux corps thérapeutiques, fut plus efficace si l'on tient compte des lésions constatées à l'autopsie qui furent minimes (10/72). Les ulcérations furent aussi moins étendues que dans les deux lots B et D, mais n'arrivèrent dans aucun cas jusqu'à la cicatrisation complète. La chute de poids fut de 5 %.

Il nous paraît possible de conclure que, dans le cadre des modalités de cette expérience, streptomycine et P.A.S. ont manifesté une *synergie réelle ;* cette constatation ne vient que confirmer ce que l'on savait déjà in vitro, in vivo et en clinique.

Nombreuses sont, en France et à l'étranger, les recherches cliniques dans ce domaine qui concluent dans le même sens d'une synergie d'action.

Nous passons sous silence ici le recul de l'apparition de la streptomycino-résistance obtenu par ce mode d'emploi.

Conclusions. — La grande différence d'action de l'I.N.H., de la streptomycine et du P.A.S. apparaît à l'évidence, malgré qu'il s'agît d'un germe tuberculeux sensible aux traitements mis en œuvre.

Il est vrai que, dans le lot soumis au seul isoniazide, la dose administrée correspondait au double de celle qu'on prescrit habituellement chez l'homme. Cette dose élevée n'a donné aucun incident toxique.

L'étude comparative des lots C, E et F, respectivement traités par l'isoniazide, I.N.H. - P.A.S. et association I.N.H.-streptomycine, est plus délicate.

L'*association I.N.H. - streptomycine* se signale par une action surprenante, profonde, sur le poids des animaux, action régulière pendant la plus grande partie de l'expérience; mais, à partir du 50$^{e}$ jour, quinze jours après l'arrêt du traitement, on constate une chute pondérale d'ensemble due sans doute à une reprise évolutive de la maladie, donnant lieu aux très rares granulations constatées à l'autopsie.

Les lésions cutanées sont comparables à celles des animaux du groupe C. Il en est pratiquement de même pour les constatations d'autopsie.

L'*association I.N.H. - P.A.S.* se signale par son influence sur les lésions cutanées, lesquelles ont toujours été minimes, peu profondes, peu inflammatoires et plus rapidement et solidement cicatrisées que dans tout autre lot : trente-deux jours après le début du traitement. Il y a là une efficacité remarquable, une synergie thérapeutique probable.

L'action sur le poids des animaux a été nette, sauf pour deux d'entre eux, ce qui fournit une courbe moyenne sans caractère précis. Comme pour les animaux du groupe C (I.N.H. seul) et du groupe F (I.N.H. - streptomycine), on constate, 15 à 20 jours après l'arrêt du traitement, une chute pondérale d'ensemble.

A l'autopsie, les fines granulations perceptibles ne sont que peu différentes de celles des animaux des groupes F et C.

Nous pouvons conclure de ces recherches que, dans les conditions de l'expérience, l'I.N.H., l'I.N.H. - streptomycine et l'I.N.H. - P.A.S. ont été les seuls traitements capables d'amener la cicatrisation des lésions cutanées; mais ils ne permirent pas de stériliser les animaux, puisque dans tous les cas, en fin d'expérience, les poids diminuèrent et de fines granulations étaient visibles à l'autopsie.

## CHAPITRE IV

# DISCUSSION DES RESULTATS

Les résultats de ces diverses expériences in vivo sont très difficiles à analyser et à comparer, étant donné les différences profondes des conditions d'expériences. Examinons quelques points particuliers.

*Date du traitement :* Elle influe considérablement sur les résultats. Un exemple typique peut en être fourni par les expériences de GOULDING et ROBSON (35). Pour eux, en effet, l'association streptomycine - I.N.H. donne des résultats très brillants lorsque le traitement est commencé le jour de l'inoculation. Si le traitement débute sur des lésions constituées, la streptomycine et l'I.N.H., administrés isolément, sont aussi efficaces qu'en association.

*Souches et animaux utilisés :* La tuberculisation a été réalisée par des souches très diverses, ce qui joue peut-être un rôle non négligeable. N'est-il pas, d'autre part, excessif d'opposer les résultats obtenus chez des animaux tels que le cobaye et le lapin, par exemple, qui réagissent de façon si différente à l'inoculation tuberculeuse ?

*Doses employées :* Elles ont varié dans des proportions importantes, et ceci est capital, car, selon l'ordre de grandeur des doses thérapeutiques utilisées, on peut espérer obtenir un effet bactériostatique, ou un effet bactéricide.

*Effets bactériostatiques :* Les études in vitro nous ont appris que, pour étudier une éventuelle synergie bactérios-

tatique pour une association donnée, il faut que cette dernière soit composée de deux doses inférieures ou égales à la moitié de l'unité bactériostatique de chacun d'eux. On peut ainsi avoir respectivement une potentialisation ou un simple effet additif.

Il importe donc de connaître, pour chaque médicament de l'association considérée, cette unité bactériostatique qui, sur le plan in vivo, est constituée par la dose minimum active. Sans la connaissance de cette dernière, on ne peut régler le traitement en conséquence. Il devient dès lors beaucoup plus difficile de comparer les résultats obtenus par une association donnée avec les résultats obtenus par les deux médicaments de l'association administrés séparément.

Les différents auteurs, sauf Gernez-Rieux (25), ont en général commencé leur expérience sans déterminer, au préalable, cette dose minimum active pour les conditions d'expériences qu'ils avaient choisies. Notre expérience ne fait pas exception à cette règle. Ceci est particulièrement net en ce qui concerne l'I.N.H. dont les doses quotidiennes ont été trop élevées, semble-t-il, dans la plupart des expériences.

De ce fait, dans plusieurs expériences, il n'est pas possible de tirer des conclusions en faveur ou non de la synergie exercée par une association qui comporte de l'I.N.H. La dose d'I.N.H., trop élevée, très supérieure à la dose minimum, donne souvent d'aussi bons résultats que l'association d'une demi-dose d'I.N.H. et d'une demi-dose d'un autre antibiotique. Or, cette demi-dose d'I.N.H. aurait peut-être donné, à elle seule, d'aussi bons résultats, car elle est souvent encore très au-dessus de la dose minimum active.

Il est donc impossible, dans ces conditions, de juger du mérite comparé d'un traitement par l'I.N.H. seul et du traitement par l'association I.N.H. + x antibiotique.

Ainsi, il est difficile d'avoir une idée précise du mérite comparé des associations. Cette mise au point peut expliquer, dans une certaine mesure, l'imprécision qui règne

dans les conclusions de plusieurs auteurs. Ils n'affirment pas toujours, par exemple, qu'il semble exister une synergie pour tel type d'association, mais remarquent l'effet plus ou moins heureux qu'elle a eu sur le poids, sur la réduction des lésions, sur les remaniements plus intenses au niveau de ces derniers, etc.

*Effets bactéricides.* — In vitro, comme nous l'avons vu, Mme Aitoff (4) a attiré l'attention sur les phénomènes de stabilisation obtenus par les associations I.N.H. - P.A.S. et streptomycine - I.N.H. Rist (11) a montré la supériorité de l'association streptomycine - I.N.H.

In vivo, les expériences de Gernez-Rieux (25) et Rist (11) ont mis l'accent, non plus sur le seul effet bactériostatique recherché habituellement par les expérimentateurs, mais sur l'effet bactéricide. Or, une association qui ne paraît pas présenter de synergie bactériostatique, peut cependant avoir une action bactéricide des plus intéressantes. C'est le cas de l'association streptomycine-I.N.H. qui a donné à ces deux auteurs des résultats remarquables lorsque les doses des deux médicaments sont égales ou supérieures au seuil d'activité.

Nous allons passer en revue les trois types d'associations étudiées au long de ce travail.

*Association streptomycine - P.A.S. :*

Les différents travaux concourent à peu près à affirmer l'existence réelle d'une synergie d'action des deux médicaments. Il semble, en outre, que le P.A.S. soit capable, dans une certaine mesure, de reculer l'échéance de la streptomycino-résistance.

*Association I.N.H. - P.A.S. :*

Plusieurs auteurs, nous l'avons vu, penchent pour une synergie d'action de ce type d'association. Certains remarquent les remaniements histologiques profonds qui s'exercent dans un sens favorable.

*Association streptomycine - I.N.H. :*

Il semble qu'à faibles doses, cette association ne présente pas de synergie. Par contre, à des doses fortes, elle paraît très intéressante et susceptible de provoquer, dans une certaine mesure, une action bactéricide.

*Association streptomycine - I.N.H. - P.A.S. :*

A part les travaux de Coletsos, in vitro, ce type d'association n'a pas été étudié, et il est impossible, par conséquent, sur un seul travail in vitro, d'avoir une opinion arrêtée quant à sa valeur.

TROISIEME PARTIE

# ESSAI D'EXTRAPOLATION A LA CLINIQUE

## ESSAI D'EXTRAPOLATION A LA CLINIQUE

Ainsi ces diverses expériences n'apportent pas la solution au problème des associations. Elles ne permettent pas de connaître l'association qu'il faut préférer, celle dont on peut attendre, en clinique, les meilleurs résultats. Elles nous apprennent, cependant, qu'il n'existe pas d'antagonisme dans les trois types étudiés mais qu'au contraire elles ont, dans l'ensemble, une action heureuse. Elles nous disent aussi qu'il faut préférer les associations aux traitements solitaires. On sait qu'en laboratoire, et in vitro, on obtient très facilement, en exposant des bacilles tuberculeux successivement à la streptomycine et à l'I.N.H. par exemple, des souches résistantes à ces deux médicaments à la fois. Mais il est très difficile d'arriver au même résultat si l'on part de milieux de culture additionnés des deux antibiotiques.

Ceci se comprend aisément : Dans chaque souche, il y a des germes moins sensibles à l'un ou l'autre de ces médicaments : ils fournissent les résistants. Mais ils sont en quantité infime, et ceux qui sont moins sensibles à la streptomycine ne sont pas, dans l'immense majorité des cas, également moins sensibles à l'I.N.H.

Par conséquent, on conçoit qu'il faille ensemencer une quantité considérable de germes pour avoir une petite chance de rencontrer cette rareté : un germe également résistant d'emblée à la streptomycine et à l'I.N.H.

Ces considérations nous montrent, de façon assez frappante, le danger qu'il y a à administrer d'abord un médicament, puis l'autre, lorsque l'action du premier s'épuise : on risque de reproduire en clinique ce qui se passe au labo-

ratoire, et de créer ainsi des souches résistantes aux deux médicaments à la fois.

Les études in vitro sont nettes dans leurs résultats, mais nous avons vu la discordance qui existe dans ces derniers. Il est d'ailleurs difficile de les assimiler à l'homme. Dans un milieu de culture, les antibiotiques diffusent d'une façon parfaite. Leur contact avec les bacilles est assuré d'une façon très stricte. Effets bactériostatiques et bactéricides peuvent être étudiés avec précision. Il n'en est plus de même pour l'animal, et partant, pour l'homme, même en faisant abstration des différents facteurs qui concourent à en faire autre chose qu'un immense milieu de culture.

Les cultures sur lames se rapprochent des conditions réalisées in vivo : les bacilles sont fixés par un support albumineux à travers lequel diffusent les produits. Aux doses thérapeutiques, après un contact de six jours, l'effet bactéricide n'est jamais absolument total avec les diverses associations (12).

Or, les conditions réalisées dans le traitement de l'animal sont bien moins bonnes, ne serait-ce que pour les bacilles phagocytés, beaucoup mieux protégés que les bacilles libres. Si l'on songe que la majorité des traitements expérimentaux ont été conduits en test de protection, on peut penser que les conditions thérapeutiques cliniques sont plus défavorables encore : d'un côté, en effet, on réalise dans un organisme une barrière antibiotique protectrice pour s'opposer à l'apparition des lésions, de l'autre on lutte contre des lésions bien établies.

La localisation de chaque bacille règle l'accès et l'activité des médicaments à son égard. Lorsque l'on administre deux médicaments à un malade, il n'est pas dit que chaque bacille les reçoive tous les deux. L'association qui, à des concentrations suffisantes, empêche avec certitude la pousse des bacilles résistants in vitro, limite ce risque sans jamais l'abolir, in vivo.

Ces constatations peuvent fournir un argument en faveur de la triple association, dans l'espoir qu'un médicament ou deux parviennent jusqu'aux bacilles les mieux protégés.

Doit-on espérer, en clinique, l'action bactéricide ou l'action bactériostatique ? Les ambitions thérapeutiques se sont bornées, jusqu'à maintenant, à cette dernière. In vitro, l'action bactéricide peut s'obtenir beaucoup plus facilement avec la méthode des associations. D'après Mackaness (23), l'association streptomycine, 1 mcg - I.N.H., 0,1 mcg, accélère la bactéricidie et la rend totale, alors que, dans les mêmes conditions d'expériences, il faut 10 mcg. de streptomycine ou 10 mcg. d'I.N.H. si ces antibiotiques sont employés séparément.

Rist (11) arrive aux mêmes conclusions et constate la supériorité de l'association streptomycine - I.N.H. sur les associations streptomycine - P.A.S. et I.N.H. - P.A.S. Pour cette dernière, la bactériostase est tardive et la bactériolyse incomplète, sauf si l'ensemencement est faible.

Dans certaines formes de tuberculose, méningites tuberculeuses, miliaires, il est peut-être possible de provoquer, dans une certaine mesure, la bactéricidie. Dans les cas de tuberculose pulmonaire ulcéro-caséeuse chronique, il semble bien que, logiquement, l'action du thérapeute ne puisse dépasser la seule bactériostase. On peut penser que les concentrations d'antibiotiques qui parviennent jusqu'aux bacilles, au sein de lésions peu propices à une bonne diffusion des médicaments, sont relativement assez faibles.

S'il y a un avantage immense à employer les associations, il ne faut pas pour cela abaisser la dose thérapeutique des médicaments, dans l'espoir que l'association d'une demi-dose de chacun produise un effet suffisant. On risquerait alors de favoriser l'apparition de germes résistants, ce que précisément la méthode vise à éviter. Il semble donc, en définitive, qu'il faille se rallier à l'association d'une pleine dose de chaque antibiotique.

Il peut être intéressant d'avoir une action thérapeutique efficace, sans employer la streptomycine. Si une intervention chirurgicale est nécessaire au malade, il y a en effet un avantage certain, notamment pour l'exérèse, à l'encadrer par une thérapeutique contenant de la streptomycine. Si on a employé la streptomycine pour refroidir des lésions qui demandent à être opérées, on risque de se heurter, au moment de l'opération, à une streptomycino-résistance. Celle-ci peut être préjudiciable à la réussite opératoire.

L'emploi préalable de l'association I.N.H. - P.A.S., qui réserve l'avenir, peut être momentanément la solution à ce problème épineux et non encore résolu, de la suprématie de tel ou tel type d'association.

# CONCLUSIONS

Ainsi les études expérimentales ont contribué à éclaircir considérablement les problèmes nouveaux posés par le traitement moderne de la tuberculose par les antibiotiques. Elles n'ont répondu que partiellement aux espoirs des chercheurs, car elles ne nous disent pas quelle est la meilleure association. Elles nous ont appris cependant l'intérêt indiscutable, confirmé par la clinique, des associations médicamenteuses. Certaines ont un effet déjà net lorsqu'on diminue les doses de chaque médicament à l'intérieur de l'association, d'autres ne sont intéressantes que si l'on associe deux doses pleines.

En pratique, il faut se rallier au mélange de deux doses entières, afin de limiter les risques de résistance.

La réponse la plus nette, et peut-être la plus importante, est précisément celle fournie au sujet de ce problème de la résistance du bacille de Koch aux antibiotiques.

Il n'est pas démontré, en effet, que le bacille soit plus fortement touché en l'attaquant avec deux médicaments plutôt qu'avec un seul. Par contre, on empêche avec certitude la pousse des résistants in vitro, en utilisant les associations.

Le résultat n'est certainement pas aussi complet en thérapeutique, mais il est tout de même capital de pouvoir reculer, dans une certaine mesure, en clinique, l'échéance de la résistance.

Au terme de cette étude, il est un peu décevant de constater qu'aucune technique de recherche ne peut, à ce jour,

conclure à la suprématie d'une certaine association d'antibiotiques. Le problème n'est pas résolu. Il ne le sera sans doute pas par les travaux de laboratoire. Ceux-ci nous ont fourni de très précieux renseignements, mais c'est la clinique, et la clinique seule, qui doit trancher le débat et apporter les résultats définitifs. Lorsque nous les aurons, un ou plusieurs autres antibiotiques feront peut-être leur apparition et viendront, du même coup, remettre tout en question, pour le plus grand bien de la thérapeutique antituberculeuse, et de l'humanité en général.

## SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes Condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes Confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :

*Pour le Doyen,*
*L'Assesseur,*

R. SIGALAS

Vu :

*Le Président,*

F. PIÉCHAUD

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,
Bordeaux, le 20 juillet 1953

Le Recteur,
F. DELAGE

# BIBLIOGRAPHIE


1. — Girard. — Référence non retrouvée.

2. — Coletsos (P. J.). — *Rev. Tub.*, 1952. 16. 7-8. 670-678.

3. — Chabbert (Y.). — *Ann. Inst. Pasteur.* T. 84. Mars 1953. N° 3.

4. — Mme Aitoff et Mlle Salas (A.). — *Ann. Inst. Pasteur.* Août 1953. T. 83. N° 2.

5. — Calmette. — L'infection bacillaire et la tuberculose.

6. — Mme Aitoff. — *Ann. Inst. Pasteur.* T. 83. N° 1.

7. — Coletsos (P. J.). — *Rev. Tub.* 1951. 15. 957-965.

8. — Viallier (J.), Serre (H.) et Cayre (R. M.). — *Ann. Inst. Pasteur.* Avril 1953. T. 84. N° 4.

9. — Maral (R.) et Blandin (A.). — *Ann. Inst. Pasteur.* 1950. 78. 681.

10. — Kitamoto (O.) et Rist (N.). — *Rev. Tub.* 1952. 15. 950-956.

11. — Rist (N.). — Séminaire sur les antibiotiques et la médecine de l'Enfance (Paris, septembre 1952).

12. — Bernard (E.), Kreis (B.) et Rist (N.). — *XI*e *Congrès National de la Tuberculose.* Toulouse, 1953.

13. — Vennesland (K.), Ebert (R. H.) et Bloch (R. G.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.* 1948. 68. 250.

14. — Hurni (H.). — *Schw. Zeit. Path. u. Bakt.* 1949. 12. 596.

15. — Espersen (E.). — *Acta Path. Microb. Scand.* 1951. 29. 350.

16. — Youmans (G. P.), Raleigh (G. W.) et Youmans (A. S.). — *J. Bact.* 1947. 54. 409.

17. — Proctor (A. M.), Lynch (H. P.) et Dye (W. E.). — *Trans. XIth. Confce. On. the Chem. of. tbc.* 1952. 255.

18. — Ilavsky (J.). — *Amer. Rev. of Tuber.* 65. 6. 777-779.

19. — Masi (A.), Dettori (M.) et Moggi (P.). — *Riv. Clin. Ped.* 1952. 50. 361.

20. — Szybalsky (W.) et Bryson (W.). — *Amer. Rev. Tuber.* 1952. 65. 768.

21. — Pansy (F.), Stander (G.) et Donovick (R.). — *Amer. Rev. of Tuber.* 65. 6. 761-764.

22. — Canetti (G.) et Saenz (A.). — *Ann. Inst. Pasteur.* 1949. 77. 611.

23. — Mackaness (G. B.). — Séminaire sur les antibiotiques et la médecine de l'Enfance (Paris. Sseptembre 1952).

24. — Baudot (J.), Delaude, Moreau et Serena. — *Presse Méd.* 28 février 1953. 61. N° 14, pp. 288-289.

25. — Gernez-Rieux (Ch.), Tacquet (A.), Fabre (M.) et Voisin (C.). — En communication.

26. — Galland et Maillet. — *Ann. Inst. Pasteur.* Décembre 1952. 83. N° 6. 803-5.

27. — Levaditi (C.), Vaisman (A.) et Chaigneau-Erhard (H.). *Ann. Inst. Pasteur.* 1952. 83. N° 1.

28. — Levaditi (C.), Vaisman (A.) et Chaigneau-Erhard (H.). *Soc. Biol. Fr.* Juin 1952. 146. N° 11. 12. 873-6.

29. — Callomon (F.F.), Kolmer (J. A.), Rule (A. M.) and Paul (A.J.). — *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 1946. 63. 237.

30. — Feldman (W. H.), Hinslaw (H. C.) and Mann (F. C.). — *Amer. Rev. Tuber.*, pp. 269-298. N° 4. Octobre 1945.

31. — Knox (R.), Mac Lean (K. S.), et Robson (J. M.). — *Brit. Med. Journ.* N° 4. 767. 17 mai 1952.

32. — Steenken (W. S.), Wolinsky (J.) and Wolinsky (E). — *Amer. Rev. Tuber.* 1947. 56. 227.

33. — Youmans (Guy) and Mac Carter (J. C.). — *Amer Rev. Tuber.* 1945. 52. 432.

34. — Desbordes (J.) et Galland (R.). — *Acta Phtisiologica.* 1952. N° 5, pp. 14-24.

35. — Goulding (R.) et Robson (J. M.). — *Lancet.* 1952. N° 6. 740, pp. 849-853.

36. — Lepri et Capalli. — *Minerva Med.* 1952. 3. N° 42.

37. — Paraf (J.), Desbordes (J.) et Rosenberg. — Soc. Biol. 11 octobre 1952.

38. — Bloch (R. G.) et Col. — *Amer. Rev. Tuber.* 1949. N° 5. 554-561.

39. — Maral (R) et Blandin (A.). — *Ann. Inst. Pasteur.* 1950. 78. pp. 677-681.

40. — Feldman (W. H.), Karlson (A.G.) et Hinshaw (H.C.). — *Proceed. Staff. Meet. Mayo. Clin.* 1947. 22. 473.

41. — Burnet (Ed.) et Mantoux (Ch.). — *Soc. Biol.* 1912. 73. pp. 384-385.

42. — Etienne Bernard et Kreis (B.). — *Ann. Inst. Pasteur.* 1949. 77. 764-767.

43. — Gernez-Rieux, Sevin et Chenet. — *Rev. Tuber.* 1949. 13. 504.

44. — Daddi (G.) et Luchesi (M.). — *Ann. Inst. Carlo. Forlanini.* 1948. 11. 111.

45. — Morelli (E.) et Daddi (G.). — *Polyclinico.* 1952. 50. 10. pp. 306-307.

46. — Fréour (P.), Woné (Ch.) et Marée (C.). — *Rev. Tuber.* 1953. 17, pp. 173-175.

47. — Grumbach (F.), Rist (N.) et Riebel (J.). — *Ann. Inst. Pasteur.* 1952. 83. N° 3, pp. 397-399.

# TABLE DES MATIÈRES

I. — Introduction ..... 11

II. — Première partie : Etudes in vitro ..... 15

*Chapitre premier :* Considérations techniques ..... 17

*Chapitre II :* Résultat des expériences ..... 23

*Chapitre III :* Discussion des résultats ..... 33

III. — Deuxième partie : Etudes in vivo ..... 39

*Chapitre premier :* Considérations techniques ..... 41

*Chapitre II :* Résultat des expériences ..... 51

I. Test de protection ..... 51

II. Traitement de la tuberculose constituée de l'animal ..... 58

*Chapitre III :* Notre expérience ..... 61

*Chapitre IV :* Discussion des résultats ..... 67

IV. — Troisième partie : Essai d'extrapolation a la clinique ..... 71

V. — Conclusions ..... 77

Bibliographie ..... 81